

ÜBER EINE METHODE ZUR PRÄPARATIVEN DARSTELLUNG
UND BESTIMMUNG DER UNVERESTERTEN FETTSÄUREN
AUS LIPID-GEMISCHEN;
ZUGLEICH EIN BEITRAG ÜBER DIE ZUSAMMENSETZUNG
DER UNVERESTERTEN FETTSÄUREN
DES BLUTSERUMS BEI GESUNDEN

vorgelegt von
Winfried Abt
aus Essen

Frankfurt/M. 1961

1964



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554805_0007

Aus der I. Medizinischen Universitätsklinik

Frankfurt am Main

Direktor: Prof.Dr.F. Hoff

ÜBER EINE METHODE ZUR PRAPARATIVEN DARSTELLUNG UND
BESTIMMUNG DER UNVERESTERTEN FETTSÄUREN AUS LIPID-
GEMISCHEN; ZUGLEICH EIN BEITRAG ÜBER DIE ZUSAMMEN-
SETZUNG DER UNVERESTERTEN FETTSÄUREN DES BLUTSERUMS
BEI GESUNDEN.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin

der hohen medizinischen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Winfried Abt
aus Essen

Frankfurt/M. 1961

Dekan: Prof. Dr. med. J. Frey

Referent: Prof. Dr. med. W. Schrade

Korreferent: Prof. Dr. med. P. Holtz

Mündliche Prüfung am : 18. Juni 1964



i n h a l t

A) E I N L E I T U N G	4
B) H A U P T T E I L	14
<u>I. Technisches</u>	14
1) Arbeitsprinzip	14
2) Material	15
3) Versuchsanordnung	16
<u>II. Vorversuche</u>	16
1) Leerversuche	17
2) Titrimetrische Bestimmung der UFS nach Dole aus UFS-Verdünnungen	17
3) Festlegung der Elutionsmengen	18
<u>III. Wiederauffindungsversuche</u>	18
1) Testfettsäuren	18
2) Lipidfraktionen	19
3) Phospholipide	20
4) Lipidfraktionen + Fettsäuren	20
5) Serum - UFS + Testfettsäuren	21
<u>IV. Arbeitsvorschrift + Fehlerbreite</u>	22
<u>V. Bestimmung der UFS bei 17 Gesunden</u>	24
C) D I S K U S S I O N	25
D) Z U S A M M E N F A S S U N G	28
E) T A B E L L E N	29
F) L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S	44
G) L E B E N S L A U F	56

ÜBER EINE METHODE ZUR PRAPARATIVEN DARSTELLUNG UND
BESTIMMUNG DER UNVERESTERTEN FETTSÄUREN AUS LIPID-
GEMISCHEN; ZUGLEICH EIN BEITRAG ÜBER DIE ZUSAMMEN-
SETZUNG DER UNVERESTERTEN FETTSÄUREN DES BLUTSERUMS
BEI GESUNDEN.

A) E I N L E I T U N G

Bereits 1883 wurden von Hoppe-Seyler unveresterte Fett-
säuren (UFS) im Blutserum des Menschen nachgewiesen (61).
1924 konnten v. Szent-Györgyi u. Tominaga diese Beobach-
tung bestätigen (99). Später wiesen Kendall (64), und
Cohn, Hughes u. Weare (28) nach, daß die UFS an die
albuminfraktion des Blutplasmas gebunden sind.
Obwohl somit seit längerer Zeit bekannt ist, daß im
Blute neben den Hauptlipidfraktionen UFS enthalten sind,
ist ihre physiologische Bedeutung bis vor kurzem nahezu
unerforscht geblieben. Erst neuerdings wissen wir, daß
den UFS eine große dynamische Bedeutung im Stoffwechsel
zukommt. Es konnte gezeigt werden, daß diese Lipidfrak-
tion eine Transportform darstellt, in der dem Organismus
Fette aus den Fettdepots kurzfristig auf dem Blutwege
für energetische Zwecke zur Verfügung stehen. (6,19,33,
35,67,94). Beachtenswert ist, daß ein Molekül UFS etwa
3 bis 4 mal so viel Energie liefert wie ein Molekül
Glukose.

Biologische Bedeutung der UFS

Zahlreiche Untersuchungen der letzten Jahre haben sich
um die Klärung des Verhaltens der UFS des Blutes unter
physiologischen und pathologischen Umständen bemüht und
ihre bedeutsame Rolle im Stoffwechselgeschehen nachge-

wiesen (5,18,33,35,38,50,51,53,77,79,97).

Umfangreiche Untersuchungen über das funktionelle Verhalten der UFS gehen auf Dole zurück (32,33,34,35,36,37).

Die UFS werden außerordentlich schnell aus dem Blute eliminiert und umgesetzt (6,42,43,44). Ihre biologische Halbwertszeit beträgt nur 2-3 Minuten (6,42,58,67).

Nach Applikation von C_{14} -markierten UFS erscheint $C_{14}O_2$ rasch in der Ausatemungsluft (19,42,43,52,67). Auf Grund der hohen Umsatzrate dieser prozentual kleinen Fettfraktion kann der Organismus die UFS in beträchtlichem Umfang zur Deckung seiner energetischen Bedürfnisse einsetzen. An Hand von Messungen der arterio-venösen Differenz der UFS in dem bei hungernden Patienten durch Herzkatheterismus gewonnenen Blut konnte nachgewiesen werden, daß der Herzmuskel im Hungerzustand 25% der ihm im Blute zugeführten UFS aufnimmt (9,51). Dabei handelt es sich vor allem um Stearin- und Ölsäure (3,23). Andere Untersuchungen haben ergeben, daß das Myocard im Hungerzustand bis zu 70% seines Energiebedarfes aus UFS decken kann (3,41). Auch die Skelettmuskulatur ist zur Oxydation von UFS befähigt (22,45,46,102,104). Das Ausmaß, in welchem die UFS als Energiespender zu metabolischen Umsetzungen herangezogen werden, hängt vor allem davon ab, inwieweit für diese Vorgänge Kohlenhydrate zur Verfügung stehen. Sind Kohlenhydrate nur in beschränktem Umfang vorhanden, wie es im Hungerzustand der Fall ist, so kommt es infolge Mobilisierung der Fettdepots zur Konzentrationszunahme der UFS (1,2,22,30,33,34,49,50,66,67,69,74,78,87,88,93,94). Auch bei Störungen der Kohlenhydratverwertung liegen gegenüber der Norm erhöhte UFS-Werte vor. Exzessive Vermehrungen der UFS finden sich daher bei stoffwechseldekompensierten Diabetikern, vor allem im Coma diabeticum. Dagegen zeigen gut eingestellte Diabetiker häufig normale UFS-Werte (5,7,33,34,35,52,71,88,89,90,103).

Steigerung der Glukoseutilisation durch Insulin bewirkt einen Abfall der UFS-Konzentrationen im Blut (33,34,35,51,66,81,88,89). Glucagon, welches endogene Glukose mobilisiert, führt ebenfalls zu einem Abfall des UFS-Spiegels (1,7,69). Entsprechend haben perorale oder

intravenöse Gaben von Kohlenhydraten (Glukose oder Fruktose) einen Abfall der UFS-Konzentrationen des Blutes zur Folge (1,2,50,51,75,81,80,89,93,97). Auch nach Gaben von Aminosäuren oder Eiweißhydrolysaten kommt es zu einem Abfall der UFS im Blut (51,57,75). Die UFS werden außer durch Insulin auch von einer Reihe anderer Hormone sowie auch durch nervöse Reize beeinflusst. Jedoch lassen sich die dabei auftretenden Änderungen in der Konzentration der UFS nur zum Teil durch den Antagonismus zwischen UFS- und Glukosestoffwechsel erklären.

Sympathikotone Reize bewirken im allgemeinen über die enzymatische Triglyceridsplaltung eine Mobilisierung von UFS aus dem Fettgewebe in das Blut. So ist der Anstieg der UFS im Blut nach Zufuhr von ACTH, Adrenalin und Arterenol zu erklären, wie sowohl mit Hilfe von in-vitro-Versuchen (53,68,82,83,86,105), als auch in vivo nachgewiesen wurde (2,33,35,39,50,59,92,93). An gesunden Probanden (79), wie im Tier- und in - vitro - Versuchen ließ sich zeigen, daß auch Wachstumshormon zur Abgabe von UFS aus dem Fettgewebe und zu ihrem Anstieg im Blute führt (38).

Schilddrüsenhormon bewirkt eine Zunahme der UFS im Blut (8,84). Dementsprechend ist bei der Thyreotoxikose der UFS-Spiegel im Blut gegenüber der Norm deutlich erhöht (8,84). Auch im Rahmen von Streß-Situationen wurden Anstiege der UFS im Blut beobachtet (12,20). Dagegen kam es nach Ganglienblockade trotz Streß nicht zum Anstieg des UFS-Blutspiegels (11). Ganglienblockade allein bewirkt einen Abfall der UFS (11,59).

Diese Beobachtungen zeigen, daß die UFS einem komplizierten Regulationssystem unterliegen und den energetischen Bedürfnissen des Organismus entsprechend aus dem Fettgewebe mobilisiert, ins Blut abgegeben und umgesetzt werden. Dabei besteht eine enge Korrelation zwischen dem Stoffwechsel der Kohlenhydrate und des Fettgewebes.

Über Methoden zur Bestimmung der UFS.

Zur Bestimmung der UFS im Blut ist eine Reihe von Methoden angegeben worden. Bei den meisten wird die Titrirbare Acidität von Lipidextrakten ermittelt, die durch verschiedene Extraktionen aus Plasma oder Serum gewonnen werden. Darin sind die UFS in angereicherter Form enthalten. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die mit den verschiedenen quantitativen Bestimmungsmethoden ermittelten Konzentrationen der UFS im Plasma und Serum bei Gesunden.

Stewart u. White beschrieben schon 1929 eine solche titrimetrische Methode und fanden im Nüchternserum von Normalpersonen durchschnittlich 10 - 40 mg-% UFS (95). Die 1947 von Davis angegebene Methode (31) extrahiert aus frischem Serum von Normalpersonen Durchschnittswerte von 0,4 mEq/l (10 mg-%) ⁺ UFS. Dabei wird die Extraktion der UFS aus Na₂SO₄-gesättigtem Serum nach Zusatz eines Detergens mit Äther bei einem pH von 6,0 durchgeführt. Bei diesem pH werden bei der Extraktion ausschließlich mittel- und langkettige Fettsäuren, jedoch keine kurzkettigen Säuren erfaßt. Nach Reinigen des Ätherextraktes an Aluminiumhydroxyd und Verdampfen des Äthers werden die UFS in Äthanol aufgenommen und mit wässriger 0,01n NaOH bei Verwendung von Thymolblau als Indikator titriert.

Wajchenberg u. Mitarb. (101) ermittelten mit der gleichen Methodik, jedoch ohne Reinigung des Ätherextraktes, bei Gesunden UFS - Werte von 0,504 mval/l. (14,10 mg%)

Ob mit der Methode von Davis (31) die UFS quantitativ erfaßt werden können, erscheint zweifelhaft, da von Kendall (64) der Nachweis erbracht wurde, daß mit wasserfreien Äther wie auch mit Petroläther eine vollständige Extraktion von Albumin - gebundenen UFS nicht möglich ist. Tatsächlich

⁺ Die Maßangaben der verschiedenen Untersucher sind nicht einheitlich. Es sind die durch Umrechnung gewonnenen mg-%-Werte zum besseren Vergleich jeweils in Klammern angefügt. Bei der Umrechnung wurde ein mittleres Molekulargewicht der Fettsäuren von 280 zugrunde gelegt.

liegen die mit der Originalmethode von Davis (31) gewonnenen Normalwerte für die UFS des Serums relativ niedrig.

Grossmann u. Mitarb. (54,55) modifizierten und verbesserten die Methode von Davis (31), indem sie die Extraktion der UFS mit Petroläther nach vorheriger Eiweißdenaturierung mittels Athanol durchführten. Diese Autoren verzichteten allerdings auf eine Reinigung des Petrolätherextraktes und fanden einen mittleren UFS - Gehalt von $0,510 \pm 0,110$ mval/l (14,25 mg%).

1956 gab Dole ein einfaches und rasches Verfahren zur Bestimmung der UFS an (33). Die Extraktion aus 1ml Serum erfolgt hierbei mit Isopropyl-Alkohol und Heptan in angesäuerter Lösung. (Isopropanol 40 Tl., Heptan 10 Tl., 1 n H_2SO_4 1 Tl.) Nach der Extraktion trennt sich durch Hinzufügen von Heptan und Wasser das Gemisch in eine untere Isopropanol - Wasser - Phase und in eine obere Heptan - Phase. Letztere wird abpipetiert und gegen 0,018 n wäßrige NaOH bis zum Umschlag eines Indikators titriert. Dole gibt als Normbereich der mit dieser Methode aus Nüchternserum bestimmten UFS 0,5-0,9 mval/l an (14,0 - 25,2 mg%).

1960 haben Dole u. Meinertz diese Methode zur Bestimmung der UFS im Blut einer kritischen Betrachtung unterzogen (37). Sie fanden, daß nach der bis dahin üblichen einmaligen Extraktion nur 80-90% der titrierbaren Acidität auf langkettige Plasmafettsäuren zurückzuführen sind. Die restlichen 10 - 20% entfallen auf Kephalin, Milchsäure und Essigsäure, so daß die nach der Dole'schen Originalmethode bestimmten Werte für die UFS im Blut als zu hoch anzusehen sind. Durch eine zweite Extraktion kann der durch die unterschiedlich hohe Konzentration organischer Säuren hervorgerufene Titrationsfehler weitgehend ausgeglichen werden (37). Jedoch verursacht die Anwesenheit von Phospholipiden die sich bei der Extraktion nicht vollständig entfernen lassen eine zusätzliche Schwierigkeit (37, 56).

1956/57 beschrieben Gordon u. Mitarb. ein Verfahren zur Bestimmung der UFS (50,51), das an Genauigkeit und Spezifität dem von Davis und Dole überlegen sein soll. Hierbei wurde die Extraktion mit Eisessig und Isooctan durchgeführt.

Svanborg u. Svennerholm (98) extrahierten mit einer Mischung von Methanol und Chloroform und erhielten mit ihrer zur quantitativen Bestimmung der UFS entwickelten titrimetrischen Methode aus dem Nüchternserum von Gesunden einen mittleren Titrationswert bei Abtrennung der Phospholipide von $0,690 \pm 0,188$ mval/l ($19,3 \pm 5,26$ mg%). Ohne vorherige Abtrennung der Phospholipide betrugen die Mittelwerte $0,887 \pm 0,169$ mval/l ($24,8 \pm 4,74$ mg%). Das entspricht 22% mehr.

Eine extrem empfindliche Methode zur Bestimmung der UFS wurde 1956 von Murkerjee (76) und 1957 von Coleman u. Middlebrock beschrieben (29). Sie beruht auf der Anreicherung von Methylenblau zwischen der wäßrigen Phase und dem Fettlösungsmittel und soll nach Coleman u. Middlebrock und Murkerjee UFS noch in 0,2 ml Plasma nachweisen können.

Mit den bisher üblichen titrimetrischen Bestimmungsmethoden können Veränderungen der UFS als Gesamtfraktion exakt festgestellt werden. Diese rein quantitativen Bestimmungen lassen jedoch, wie bereits Fredrickson u. Gordon (43) andeuten, viele Fragen offen. So konnte nachgewiesen werden, daß die im Blute vorhandenen UFS eine unterschiedliche biologische Halbwertszeit haben (44,57). Auch in ihren metabolischen Regulationen zeigen die einzelnen UFS ein differentes Verhalten, eine Tatsache, die sich ebenfalls mit der rein quantitativen Bestimmung titrimetrischer Methoden nicht objektivieren läßt. In erster Linie werden von den UFS Palmitin- und Ölsäure umgesetzt, wogegen die Konzentration an Linolsäure relativ konstant bleibt.

Böhle u. Mitarb. fanden bei Untersuchungen über die Regulationen der UFS bei der vegetativen Gesamtumschaltung

- als Folge von Pyrexialinjektionen, Pneumencephalographien, von kurzdauernden fieberhaften Erkrankungen und von Herzinfarkten - einen anfänglichen kurzen Anstieg der UFS-Gesamtfraktion mit nachfolgendem starkem Abfall. An der anfänglichen Vermehrung der UFS waren ausschließlich die einfach ungesättigten Säuren, vor allem die Ölsäure beteiligt. Die nachfolgende Verminderung der UFS ging in erster Linie zu Lasten der gesättigten Palmitin- und Stearinsäure. Auffallend konstant verhielt sich dagegen die zweifach ungesättigte Linolsäure. Schrade u. Mitarb. (88) stellten fest, daß bei der pathologischen Erhöhung der UFS, wie sie bei Diabetikern vorkommt, alle Säuren vermehrt sind, jedoch in unterschiedlichem Ausmaß. Palmitin- und Stearinsäure sind am stärksten, Ölsäure in etwas geringerem Maße erhöht. Dagegen bleibt die Steigerung der Linolsäure hinter der Vermehrung dieser Säuren weit zurück, so daß eine prozentuale Verminderung ihres Anteiles resultiert. Bei dem hungerbedingten Anstieg der UFS sowie bei der Verminderung der UFS, wie sie nach Glukose, nach Insulin und nach Rastinon eintritt, wurden von Schrade u. Mitarb. (88) unterschiedliche Reaktionen der einzelnen Fettsäuren beobachtet. Der Anstieg der UFS im Hungerzustand war vor allem auf eine Vermehrung der Öl- und Palmitinsäure zurückzuführen. Der durch Glukose bedingte Abfall der UFS ging mit einer Verminderung von Palmitin-, Stearin- und Ölsäure einher, während Insulin und Rastinon zu einer annähernd gleichmäßigen Verminderung aller UFS führten. Miller u. Mitarb. (73) fanden bei Versuchen an Hunden, daß das Myocard dem Blute besonders Palmitin- und Ölsäure entnimmt, weniger dagegen Stearin- und Linolsäure. Der elektrisch stimulierte Skelettmuskel wiederum setzt vorwiegend Ölsäure um. Carlsten u. Mitarb. (23) beobachteten bei Versuchen an gesunden Probanden nach Myocardpassage im Blut einen Abfall des prozentualen Anteiles der Stearin- und Ölsäure, welche offenbar extrahiert werden, während der prozentuale Anteil der Linolsäure, die nicht extrahiert wird, ansteigt.

Die letztgenannten Beobachtungen setzen eine differenzierte Analytik der einzelnen UFS voraus. Dabei ist es notwendig, die UFS präparativ darzustellen, um sie weiteren Untersuchungen zuführen zu können.

Verfahren zur präparativen Darstellung der UFS aus natürlichen Lipidgemischen wurden bereits von einigen Autoren angegeben. Hierbei erfolgte die Auftrennung der Gesamtlipide mit Hilfe der Kieselsäure-Säulenchromatographie in ihre Hauptgruppen, Phospholipide, Cholesterinester, Glyceride, freies Cholesterin und UFS, eine Technik, die zuerst von Borgström (15,16) und von Fillerup u. Mead (40) angewandt wurde. Auch Lipsky u. Mitarb. (70) sowie Hirsch u. Ahrens (60) versuchten die Isolierung der UFS von den anderen Bestandteilen der Blutlipidextrakte mit Hilfe dieses Verfahrens. Eine einwandfreie Darstellung der UFS hat sich jedoch auf diese Weise als schwierig erwiesen. So konnten Lipsky u. Mitarb. bei Benutzung des von Fillerup u. Mead (40) vorgeschlagenen Lösungsmittelsystems Cholesterinester und Triglyceride zwar zu 95% wiederauffinden; Versuche, Lipidextrakte weiter zu trennen, waren jedoch erfolglos. Die Untersucher stellten eine erhebliche wechselseitige Vermischung der freien Fettsäuren und der Sterine fest. Auch das beträchtliche "Overlapping" der Zonen konnte weder durch Verlängerung der Säulen noch durch Änderung der Konzentrationen in den Lösungsmittelsystemen vermieden werden. Zöllner u. Kirsch (107) fanden, daß sich bei Anwendung der Kieselsäuresäulenchromatographie die UFS nicht vollständig von den Triglyceriden trennen lassen, so daß diese gemeinsam eluiert werden. Böttcher u. Mitarb. (17) wiesen nach, daß die UFS bei der Chromatographie von Lipidgemischen an Kieselsäure über einen weiten Bereich ohne Elutionsmaximum abgetrennt werden. Sie benutzten daher zur Darstellung der UFS im Blut ein grundsätzlich anderes Verfahren, das der sog. "Alkali-Extraktion". Hierbei werden nach vorheriger Entfernung der Phospholipide die UFS durch

Ausschütteln der Lipidextrakte mit schwach basisch wäßrigen Lösungen als Seifen gewonnen.

ähnlichen verfahren Dole u. Mitarb. (36). Hierbei werden die UFS zunächst mit Isopropanol-heptan- H_2SO_4 extrahiert und in der Heptanphase angereichert. Nach Verseifung der UFS mit 0,02 n NaOH, die zugleich ihrer titrimetrischen Bestimmung dient (s. Originalmethode von Dole (33)), wird dem Heptan-Alkaligemisch wäßriges Äthanol zugesetzt. Die Ester werden durch Ausschütteln gegen Petroläther entfernt. In der wäßrigen Phase befinden sich die Seifen der UFS, die methylverestert und mit Petroläther ausgeschüttelt werden.

Die Präparation der UFS nach der Technik von Böttcher u. Mitarb. (17) läßt jedoch ebenfalls keine ideale Isolierung zu. So konnte gezeigt werden, daß mit der Methode der Alkali-Extraktion der UFS in geringem Umfang auch Triglyceride verseift werden und daß insgesamt bis zu 3% der als Seifen gewonnenen Fettsäuren nicht den UFS entstammen (14). Noch kritischer sind die mit der von Dole (36) angegebenen Methode gewonnenen Ergebnisse zu werten, weil es hier noch zusätzlich zu einer partiellen Verseifung von Phospholipiden kommt. Der Anteil der als Verunreinigungen anzusehenden Fettsäuren beläuft sich auf 7 - 10% (14).

Auf eine weitere Möglichkeit zur Darstellung der UFS machten Cason u. Mitarb. aufmerksam mit der Feststellung, daß für die säulenchromatographische Abtrennung von freien Fettsäuren aus neutralen Lipiden grundsätzlich Ionenaustauscher geeignet sind (25). Mit den auf Verwendung des stark basischen Ionenaustauschers IRA 400 basierenden Darstellungsverfahren, wie sie beispielsweise von Savary u. Desnuelle (85) und von Borgström (15) angewandt wurden, lassen sich freie Fettsäuren aus synthetischen Lipidgemischen abtrennen. Hornstein u. Mitarb. (62) konnten bei ihren Versuchen mit dem Ionenaustauscher IRA 400 UFS zu 60 - 95% eluieren. Für die Trennung der UFS aus natürlichen Lipidgemischen wurden diese Methoden jedoch für ungeeignet befunden, da eine vollständige Elution natürlicher Fettsäuren aus dem Ionenaustauscher nicht erreicht werden konnte (17).

Auch McCarthy u. Dutrie (24) sahen die Elutionsergebnisse der UFS mit Amberlite IRA 400 als nicht befriedigend an und entwickelten 1962 ein Verfahren, bei dem als Säulenfüllung alkalisierte Kieselsäure verwandt wurde. Sie eluierten die neutralen Lipide mit Äther, die UFS mit 2%-iger Ameisensäure in Äther (v/v). Bei Versuchen mit Amberlite IRA 400, das nach der Technik von Hornstein u. Mitarb. (62) behandelt wurde, konnten McCarthy u. Duthie (24) zeigen, daß Fettsäuren aus vorangegangenen Beschickungen der Säule mit denen der letzten vermischt waren. Die bei Verwendung von IRA 400 wiedergefundenen Fettsäuren waren zudem durch den stark basischen Ionenaustauscher z.T. unter Bildung dunkelfarbiger Verbindungen zersetzt (17). Auch erfolgten Umlagerungen der Doppelbindungen (Isomerisationen) an noch ungesättigten Fettsäuren mit zwei und mehr Doppelbindungen (14).

Nachdem sich somit gezeigt hatte, daß die präparative Darstellung der UFS durch Ausschütteln mit leicht alkalischen Lösungen in erster Linie in quantitativer Hinsicht fehlerhafte Ergebnisse liefert und die Abtrennung der UFS durch stark basische Ionenaustauscher zu strukturellen Veränderungen an den Fettsäuren führt, haben wir versucht, die UFS mit Hilfe eines leicht basischen Ionenaustauschers aus natürlichen Lipidgemischen zu isolieren.

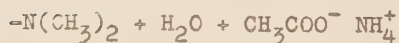
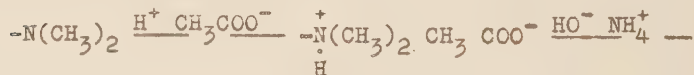
Über die Ergebnisse unserer Untersuchungen, die Ausarbeitung einer entsprechenden Methodik und die Anwendung dieser Technik bei der Bestimmung der UFS von 17 Gesunden soll hier berichtet werden.

B) H A U P T T E I L

I. Technisches

1) Arbeitsprinzip

In der vorliegenden Arbeit wurde für die präparative Darstellung der UFS des Blutes der Ionenaustauscher IR-45 verwendet. Amberlite IR-45 ist ein schwach basisches Amin. Bei pH-Werten über 8 liegt es in der ungeladenen Form vor, bei Behandlung mit Säure addiert die Aminogruppe ein Proton und bindet das zugehörige Säureanion auf elektrostatischem Wege. Nach anschließender Alkalisierung reagiert das Proton mit Hydroxylionen zu Wasser, man bekommt die ungeladene Aminform zurück, das Anion - in Form des Salzes - wird eluiert. Folgende Gleichung veranschaulicht dies:



(Mitteilung des Herstellers)

Das Prinzip des Verfahrens beruht auf der Tatsache, daß die UFS von dem Ionenaustauscher auf Grund ihrer freien organischen Säuregruppen an die Amingruppen des Ionenaustauschers adsorbiert, dann aber durch Behandlung des Kunstarztes mit essigsaurem Methanol wieder eluiert werden.

2) Material

Amberlite Type IR-45 p.a.; Amin; Korngröße 0,4-0,5 mm, Siebzahl 20-50 mesh; maximale Arbeitstemperatur 40°C. Beständigkeit: Konz. Alkali, aliphatische und aromatische Lösungen, Säuren (jedoch empfindlich gegen Salpetersäure). Durchlaufgeschwindigkeit 250 ml/min./l Harz; pH-Bereich 0 - 7; Regenerationsgeschwindigkeit 125 ml/min./l Harz. Hersteller: Firma Rohm und Haas Comp., Philadelphia, USA.

Methanol p.a. und für Chromatographie, Fa. Merck, Darmstadt;
Chloroform p.a. und für Chromatographie, Fa. Merck, Darmstadt;
2% (v/v) wässrige Essigsäure (hergestellt aus Acidum aceticum glaciale p.a., Fa. Merck, Darmstadt, durch Verdünnung mit Aqua bidest.)

2% (v/v) wässrige NH₄OH-Lösung (hergestellt aus Ammoniaklösung (Salmiakgeist) 0,910 = 24° Bé (etwa 25%) p.a. und für Chromatographie, Firma Merck, Darmstadt, durch Verdünnung mit Aqua bidest.)

Testsubstanzen:

"Linolsäure"	(Fa. Hoffmann la Roche)
"Linolensäure"	(Höchstler Farbwerke AG)
"Palmitinsäure"	(Fa. Merck, Darmstadt)
"Stearinsäure"	(Fa. Merck, Darmstadt)
"Ölsäure"	(Fa. Merck, Darmstadt)

PMO, polyensäurenreiche Mono- und Diglyceride, (Fa. Nattermann)
Lecithin, gereinigt, pro injectione (Lipostabil i.v., Fa. Nattermann) (durch Dialyse gereinigt)
Lecithin ex ovo puriss. (Fa. Merck, Darmstadt) (durch Dialyse gereinigt)

Cholesterin (Merck, Darmstadt)
"Triolein" (Fa. Merck, Darmstadt)
Cholesterylpalmitat (Prof. Butenandt)
"Behensäure" (Fa. Merck, Darmstadt)

Gaschromatographische Analyse⁺ der Testsubstanzen: Tabelle II

⁺Sämtliche gaschromatographischen Analysen wurden von Herrn Dr. med. E. Bönle im Labor der I. Med.-Univ.-Klinik Frankfurt/M. durchgeführt.

3) Versuchsanordnung

Es wurde eine Glassäule mit einem Innendurchmesser von 10 mm und einer Länge von 200 mm verwandt, an deren oberem Ende ein zylindrischer Behälter mit einem Fassungsvermögen von 300 ml angeschmolzen war. An ihrem unteren Ende, das sich vor dem Schliffhahn stark verjüngt, wurde sie durch einen reissnagelförmigen Glasstift und eine 1 cm starke Schicht gereinigter Watte verschlossen.

4) Reinigung und "Aktivierung" des Kunstharzes

Der Ionenaustauscher IR-45 muß vor seiner Verwendung sorgfältig vorbereitet werden. Zunächst wurde das Kunstharz auf einer kleinkalibrigen Fritte gründlich mit Methanol p.a. gewaschen. Anschließend wurde es mit 2% (v/v) wäßriger Essigsäure behandelt und mit Aqua bidest. bis zur neutralen Reaktion gespült. Nun erfolgte die weitere Aktivierung mit 2% (v/v) wäßriger NH_4OH - Lösung, und überschüssiges Ammoniak wurde durch Spülen mit Aqua bidest. bis zum Neutralpunkt ausgewaschen. Nach Entfernen des restlichen Wassers durch mehrmaliges Spülen mit Methanol, wurde der Ionenaustauscher in die mit Methanol gefüllte Säule etwa bis zur Höhe von 15 cm eingebracht. In diesem Zustand war die Säule verwendungsbereit.

II. Vorversuche

Vor Anwendung der Methode für die Isolierung der UFS aus natürlichen Blutlipidextrakten wurde eine Reihe von Testversuchen vorgenommen.

1) Leerversuche

Zunächst wurden 8 Säulen mit aktiviertem Ionenaustauscher gefüllt und mit je 300 ml Methanol und anschließend mit der gleichen Menge essigsäurem Methanol durchgespült. Der weitere Arbeitsgang erfolgte gemäß der in der Arbeitsvorschrift aufgezeigten Weise (siehe unten). Dabei ergab sich gravimetrisch bei 300 ml Lösungsmittel in beiden Fraktionen ein Rückstand von durchschnittlich 0,55 mg (0,5 - 0,6 mg). Die eluierte Substanz, vermutlich Bestandteile des Ionenaustauschers, verhielt sich titrimetrisch völlig indifferent, d.h. die Titrationen einer Palmitinstandardlösung, und einer Palmitinstandardlösung, der die eluierte Substanz zugefügt war, ergaben die gleichen Titrationswerte. Auch bei der gaschromatographischen Analyse der eluierten Substanz traten keine von der Basislinie abweichenden Ausschläge auf. Die konstante Elution von 0,5 - 0,6 mg einer die titrimetrischen und gaschromatographischen Ergebnisse nicht beeinträchtigenden Substanz ist daher lediglich bei den gravimetrischen Ergebnissen zu berücksichtigen. Von den in der vorliegenden Arbeit angegebenen gravimetrischen Ergebnissen wurde daher jeweils der Betrag von 0,55 mg abgezogen.

2) Titrimetrische Bestimmung der UFS nach Dole bei UFS - Verdünnungen.

Zur titrimetrischen Bestimmung der mittels Ionenaustauschchromatographie gewonnenen UFS wurde die Methode von Dole herangezogen. Der Konzentrationsbereich entsprechender UFS-Lösungen, der bei Anwendung dieser Arbeitsweise exakt erfaßt werden kann, liegt zwischen 5 u. 40 mg %. Es mußte daher zunächst geprüft werden, inwieweit eine titrimetrische Bestimmung der UFS nach

Dole (33,37) im Rahmen der später vorgenommenen Verdünnungen unserer Eluate möglich ist. Zu diesem Zweck haben wir Einwaagen verschiedener Fettsäuren in der Größenordnung der zu erwartenden Eluate hergestellt (je 20 mg%), die Einwaagen in 100 ml Heptan gelöst und von jeder Lösung jeweils 5 - mal je 1 ml einer Titration nach Dole unterzogen. Die Ergebnisse sind in Tabelle III dargestellt. Sie zeigen, daß der Titrationswert geringfügig (zwischen 0,5 und 4,0 , im Mittel 2,1 %) unter dem errechneten Wert liegt.

3) Festlegung der Elutionsmengen

An Hand von 2 Elutionsversuchen konnte nachgewiesen werden, daß die von uns verwendete Lösungsmittelmenge ausreichend ist, um die in die Säule eingebrachten Lipide zu eluieren (Tabelle IV). Die Titrationswerte zeigen, daß mit insgesamt 300 ml essigsäurem Methanol 99% der eingesetzten Fettsäuren eluiert werden. Die folgenden Eluate enthielten keine titrierbare Azidität.

III. Wiederauffindungsversuche

1) Testfettsäuren

Wir haben weiterhin geprüft, in welcher Menge Testfettsäuren nach Passage der Amberlite-Säule wiederauffindbar waren. Im einzelnen wurden die Testversuche mit der gesättigten C₁₆- und C₁₈- sowie C₂₂-Säure (Palmitin-, Stearin- und Behensäure) sowie der einfach und doppelt ungesättigten C₁₈- Säure (Ölsäure und Linolsäure) durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle V zusammengestellt. Gravimetrisch fand sich dabei nach Abzug von jeweils 0,55 mg

Verunreinigung eine Ausbeute von insgesamt 97,5 % der Einwaagen. Die Elution der Palmitinsäure lag zwischen 93,4 und 100,0%, von Stearinsäure zwischen 95,6 und 99,1%. Ölsäure wurde zwischen 94,0 und 102,5%, Linolsäure zwischen 92,5 und 99,0% und schließlich Behen-säure zwischen 95,0 und 99,5% wiederaufgefunden.

Auch bei der titrimetrischen Bestimmung der Extrakte zeigte sich eine gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen der gravimetrischen Bestimmungen. Allerdings lassen die Wiederauffindungsversuche erkennen, daß zwischen den Ergebnissen der gravimetrischen und titrimetrischen Bestimmungen gewisse Unterschiede bestehen. Die Ausbeute an Testfettsäuren lag bei den gravimetrischen Analysen im Mittel bei 97,5%, titrimetrisch konnten durchschnittlich 95,3% der eingewogenen Testfettsäuren nachgewiesen werden.

Die gaschromatographischen Untersuchungen der methylierten Testfettsäuren vor und nach Passage der Amberlite-Säule ergaben, daß die Zusammensetzung und Struktur der Fettsäuren durch den Ionenaustauscher nicht verändert wurden. Wie aus Tabelle VI hervorgeht, lagen allerdings die Prozentanteile der Hauptfettsäuren nach Passage der Säule etwas niedriger als vorher.

2) Lipidfraktionen

Weitere Versuche galten der Frage, ob die in natürlichen Lipidgemischen enthaltenen Fraktionen bei der Säulenpassage mit Methanol eluiert werden, oder partiell adsorbiert werden können. Zu diesem Zweck haben wir Lipide, die keine UFS als Verunreinigungen enthielten, und zwar mono-, Di- und Triglyceride sowie freies und verestertes Cholesterin untersucht. Die Ergebnisse zeigten auch für diese Verbindungen Ausbeuten von über 90% (Tabelle VII). In der essigsäuren Methanol-Fraktion fand sich in keinem Fall eine titrierbare Azidität.

3) Phospholipide.

Dagegen ergaben Testversuche mit gereinigtem Lecithin ⁺¹ (Tabelle VIII), daß von dem eingesetzten Phospholipid nur zwischen 82,1 und 86,4% mit Methanol zu eluieren waren. Der in der Säule zurückgebliebene Rest ließ sich wie die UFS mit essigsauerm Methanol aus der Säule auswaschen. Ein ähnliches Verhalten zeigte Lecithin pro injectione ⁺², welches ebenfalls nur zu 81,0 bis 89,5% mit Methanol eluiert werden konnte (Tabelle VIII). Die mit essigsauerm Methanol aus der Säule ausgewaschene Fraktion enthielt geringe Mengen titrierbarer Azidität (Tabelle VIII). Der mit essigsauerm Methanol aus der Säule gewonnene Rest konnte gaschromatographisch als Phospholipidfettsäuren identifiziert werden. (Tabelle IX).

4) Lipidfraktionen plus Fettsäuren

Schließlich wurden Mischungen von Triolein bzw. Cholesterin mit verschiedenen unveresterten Fettsäuren auf die Säule gebracht und nacheinander mit Methanol und essigsauerm Methanol eluiert. Aus den Ergebnissen dieser Versuche (Tabelle X) konnte auf eine gute Fähigkeit des Ionenaustauschers, aus phosphatidfreien Lipidgemischen unveresterte Fettsäuren abzutrennen, geschlossen werden. Gravimetrisch ließen sich die eingewogenen Testfettsäuren aus den Lipidgemischen im Mittel zu 97,4%, titrimetrisch zu 95,5% wiederauffinden. Die Fettsäurezusammensetzung der Methanol-essigsäure-Fraktion zeigte gaschromatographisch eine gute Übereinstimmung mit der gaschromatographischen Zusammensetzung der nativen Testfettsäuren (Tabelle X).

⁺¹ Lecithin ex ovo puriss.; durch Dialyse gereinigt; (Fa. Merck)
⁺² Lecithin pro injectione (Lipostabil i.v.) (Fa. Nattermann)
durch Dialyse gereinigt

5) Serum-UFS plus Testfettsäuren

Um festzustellen, in welchem Umfang die natürlichen Lipidgemischen zugesetzten Testfettsäuren wieder aufgefunden werden, haben wir von 6 verschiedenen Seren jeweils 2 Gesamtlipidextrakte aus je 6 ccm hergestellt. Jedem Duplikat wurde eine bestimmte Menge Stearinsäure zugefügt. Anschließend erfolgte nach Abtrennung der Phospholipide durch Gummimembran-Dialyse aus allen Proben die gravimetrische und titrimetrische Bestimmung der UFS mit Hilfe der Chromatographie an Amberlite. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle XI dargestellt. Es geht daraus zunächst hervor, daß die den Lipidextrakten zugesetzten UFS quantitativ wieder aufgefunden werden. Die Ausbeute betrug bei gravimetrischer Bestimmung der UFS im Mittel 98,1%, bei titrimetrischer Bestimmung 97,8%.

Mit Hilfe vergleichender gaschromatographischer Analysen konnte darüber hinaus nachgewiesen werden, daß durch den Zusatz der Testfettsäuren die Zusammensetzung der chromatographisch isolierten UFS weitgehend den UFS-Spektren entsprach, wie sie rechnerisch zu erwarten waren (Tab. XII). Differenzen zwischen den ermittelten und berechneten prozentualen Werten wurden in erster Linie bei den Fettsäuren mit hoher Konzentration beobachtet. Hier ergaben sich Abweichungen bis maximal 2,9% ($C_{18:0}$, Fall 87).

Unsere Vorversuche lassen somit erkennen, daß die UFS auch aus Testlipidgemischen quantitativ eluiert werden können. Die Ergebnisse in Tabelle VIII zeigen, daß die Phospholipide vor der Säulenpassage von den übrigen Lipiden abgetrennt werden müssen. Es wurde hierfür die Methode nach van Beers, De Jongh u. Boldingh (4) angewandt, bei der die in Petroläther (40-60° siedend) gelösten Lipide mittels Dialyse durch eine Gummimembran von den Phospholipiden isoliert werden. (Beschreibung siehe unter Arbeitsvorschrift)

IV. Arbeitsvorschrift und Fehlerbreite

Die zur Einbringung in die Amberlite-Säule bestimmten Blutlipidextrakte haben wir wie folgt gewonnen: 6 ccm Nüchternserum wurden unmittelbar nach der Blutentnahme nach der Methode von Bloor (10) mit der 20-fachen Menge Alkohol-Ather (3:1) 15 Minuten lang aufgekocht und der Alkohol-Atherextrakt vorsichtig dekantiert und filtriert. Anschließend erfolgte mit insgesamt 50 ml eine 2-malige Alkohol-Ather-Extraktion des Eiweißrückstandes. Die vereinigten Alkohol-Atherextrakte wurden unter Hydrochinon und Stickstoff auf dem Wasserbad bis zur Trockne eingeengt und der Extrakt über Nacht im Exsiccator über Paraffin und Calciumchlorid getrocknet. Die Lipide nahmen wir anschließend in insgesamt 10 ml Chloroform auf, um etwaige wasserlösliche Verunreinigungen abzutrennen, und filtrierten den Lipidextrakt in ein vorgewogenes Gläschen. Nach Verdampfen des Chloroforms unter Stickstoff und nochmaliger Trocknung über Calciumchlorid und Paraffin wurden die Gesamtlipide nach Erreichen der Gewichtskonstanz gravimetrisch bestimmt.

Den Gesamtlipidextrakt unterzogen wir zur Abtrennung der Phospholipide einer Gummimembran-Dialyse nach van Beers, De Jongh u. Boldingh (4). Dabei wurde der Gesamtlipidextrakt in insgesamt 15 ml Petroläther (40-60° siedend) aufgenommen und in einen mit Petroläther und Alkohol über 48 Stunden am Rückfluß ausgekochten Fingerling eingebracht. Die Dialyse selbst erfolgte gegen Petroläther (40-60° siedend) über 14 Stunden, wobei für einen kontinuierlichen Petrolätherzu- und -abfluß gesorgt werden mußte. Das Prinzip der Gummimembran-Dialyse beruht auf der Eigenschaft der Phospholipide, in nicht polaren Lösungen, wie beispielsweise in Petroläther, nicht-dialysable Mizellen mit einem Molekulargewicht von über 8000 zu bilden (4), während die übrigen Lipide die Gummimembran passieren können.

Nach Abtrennung der Phospholipide wurden die übrigen Lipide (Cholesterinester, freies Cholesterin, Triglyceride und UFS) unter Zugabe von Hydrochinon unter Stickstoff bis zur Trockne eingeeengt, anschließend in 5 ml Chlchloroform aufgenommen und auf die unter Methanol stehende Amberlite-Säule gebracht. Mit 300 ml Methanol p.a. erfolgte bei einer Durchlaufgeschwindigkeit von 60 - 70 Tropfen pro Minute die Elution der neutralen Lipide und es verblieben lediglich die vom Ionenaustauscher auf Grund ihrer unveresterten organischen Säuregruppe adsorbierten UFS. Sie wurden anschließend mit 300 ml 2%-iger (v/v) methanolischer Essigsäure aus ihrer Bindung an den Ionenaustauscher verdrängt und ausgewaschen. Hierbei ließen wir die Essigsäure-Methanol-Lösung in 20 - 30 ml Petroläther (40° siedend) ein-tropfen. Nach Zugabe von etwa 5 ml Aqua bidest. wurde die essigsäure Methanol-Phase insgesamt 3-mal mit jeweils 50 ml Petroläther ausgeschüttelt und die vereinigten Petrolätherauszüge schließlich 3-mal mit Aqua bidest. gewaschen, um eventuelle, dem Ionenaustauscher entstammende, wasserlösliche Verunreinigungen zu beseitigen. Den Petroläther haben wir unter Stickstoff eingedampft, den Rückstand in Wiegegläschen überführt, im Exsiccator getrocknet und nach Erreichen der Gewichtskonstanz gewogen. Eine anschließend vergleichende titrimetrische Bestimmung erfolgte nach Auflösen der Fettsäuren in 50 oder 100 ml Heptan aus 1 ml nach Dole. Zur gaschromatographischen Analyse wurden 0,5 oder 1,0 ml der UFS mit 2%-iger methanolischer Schwefelsäure (v/v) methylverestert, die Methylester mit Petroläther (40° siedend) ausgeschüttelt und im PYE-Gaschromatographen fraktioniert. Die Arbeitsbedingungen waren folgende: Kolonne 120x0,4 cm, Säulenfüllung mit Chromosorb W (80-100 mesh) und Reoplex 400 (20%). Temperatur 179°, Gasgeschwindigkeit 36 cm³/min. Argon, Druckabfall 0,72 atü. Detektorspannung 1250 Volt, Empfindlichkeit X₁₀ bzw. X₃.

Die methodische Fehlerbreite wurde auf Grund von 12 Doppelbestimmungen an gesunden Probanden nach der Formel $S.E. = \sqrt{\frac{\sum d_i^2}{2n}}$ (error of method) errechnet, die entspricht dabei der Differenz der beiden Einzelbestimmungen bei einer Versuchsperson, n der Anzahl der Fälle (Tab. XIII). Für die gravimetrische Bestimmung ließ sich bei einem Mittelwert von 23,8 mg% ein methodischer Fehler von $\pm 1,58$ mg% errechnen. Das entspricht 6,64% des Mittelwertes. Die titrimetrische Bestimmung ergab bei einem Mittelwert von 24,5 mg% einen methodischen Fehler von $\pm 1,19$ mg%, also 4,86% des Mittelwertes.

V. Bestimmung der UFS bei 17 Gesunden

Unter Anwendung der beschriebenen Methode haben wir die UFS bei 17 Stoffwechselgesunden untersucht. Die gaschromatographischen Untersuchungen wurden von Herrn Dr. med. E. Böhle, I. Med.-Univ.-Klinik Frankfurt/M. durchgeführt. Dabei ergaben sich bei einem mit durchschnittlich 743 mg% im Bereich der Norm liegenden Gesamtlipidgehalt für die UFS Werte zwischen 12 und 32 mg%, im Durchschnitt also 22 mg%. Die gaschromatographischen Analysen der gewonnenen UFS zeigen, daß sich diese Fraktion aus den gleichen Fettsäuren zusammensetzt, wie sie auch in den übrigen Blutlipidfraktionen vorkommen; jedoch ist das Verhältnis der einzelnen Fettsäuren zueinander bei den verschiedenen Lipidfraktionen unterschiedlich und nur in relativ engen Grenzen variabel, so daß sich jeweils charakteristische "Fettsäuremuster" ergeben (36,63). So zeigen die UFS des Serums die in Abbildung 1 wiedergegebene gaschromatographische Kurve.

Im einzelnen fanden sich in den Seren der Normalpersonen an gesättigten Fettsäuren regelmäßig Spuren von Laurinsäure, eine kleinere Menge von Myristinsäure (zwischen 1,8

und 9,5%) und als Hauptanteil Palmitinsäure, deren Anteil zwischen 23,5 und 34,5 %, im Durchschnitt der 17 Fälle also bei 27,9 % lag. Hinzu kam noch eine beträchtliche Menge an Stearinsäure (im Mittel 14,5%). Auf die gesättigten Fettsäuren entfielen insgesamt etwas weniger als die Hälfte der UFS des Blutes. An einfach ungesättigten Fettsäuren konnten Palmitolein- und Ölsäure nachgewiesen werden, und zwar die erstere in einer durchschnittlichen Menge von 6,1 %, die Ölsäure zwischen 19,7 und 36,2 %, im Durchschnitt 27,3 %. Bei den mehrfach ungesättigten Fettsäuren ergaben sich für die Linolensäure Werte zwischen 5,6 und 16,7 %, durchschnittlich 12,5 %. Neben Spuren von Linolensäure wurden regelmäßig auch Arachidonsäure und hoher ungesättigte Fettsäuren nachgewiesen. Unregelmäßig fanden sich ferner kleinste Mengen verschiedener anderer Fettsäuren, die in Tabelle XIV unter R zusammengefaßt wurden.

VI. Diskussion

Mit Hilfe der beschriebenen chromatographischen Methode unter Anwendung des Ionenaustauschers IR 45 lassen sich die UFS aus natürlichen, phosphatfreien Lipidgemischen abtrennen. Nach der Darstellung der Gesamtlipide durch Alkohol-Atherextraktion des Serums (10) mußten daher die Phospholipide in einem gesonderten Arbeitsgang durch Gummimembran-Dialyse aus den übrigen Serumlipiden eliminiert werden (4). Die anschließende präparative Darstellung der UFS ermöglicht eine quantitative Bestimmung sowie eine qualitative Untersuchung ihrer einzelnen Fettsäuren, z.B. mit Hilfe der Gaschromatographie.

Die quantitative Bestimmung der UFS kann entweder gravimetrisch oder titrimetrisch erfolgen. Nach unseren Fest-

stellungen bietet die titrimetrische Bestimmung, auch wenn sie bekanntermaßen genauer ist, keine wesentlichen Vorteile gegenüber der gravimetrischen. Diese Tatsache dürfte darauf zurückzuführen sein, daß zur titrimetrischen Bestimmung die gewonnenen UFS - Präparate verdünnt werden müssen.

Im Vergleich zu den Befunden anderer Autoren ergibt sich eine methodische Fehlerbreite, die für unser gravimetrisches Verfahren bei 6,64 % des Mittelwertes, für unsere titrimetrischen Ergebnisse bei 4,86 % des Mittelwertes liegt. Demgegenüber fand Dole einen Fehler von 2,6 %. Der Vergleich zeigt, daß der methodische Fehler unserer Arbeitsweise höher liegt. Es ist dabei jedoch, wie bereits eingangs erwähnt, zu berücksichtigen, daß bei der Dole'schen Extraktion nicht allein UFS, sondern auch andere Substanzen mit titrierbarer Azidität sowie Phospholipide miterfaßt werden (37). Dagegen werden mit der von uns angewandten Technik tatsächlich ausschließlich UFS bestimmt. Dies mag der Grund dafür sein, daß die von uns gefundenen quantitativen Werte im Mittel etwas niedriger liegen. Die gravimetrische Bestimmung der UFS sowie der relativ komplizierte Aufarbeitungsgang unserer Methode lassen die Unterschreitung einer gewissen Fehlerbreite nicht zu. Für die gravimetrische Bestimmungsmethode kann die ermittelte Fehlerbreite als relativ gering angesehen werden. Sie ist jedoch zu groß, um mit der beschriebenen Methode leichtere physiologische und pathologische Schwankungen in der Konzentration der UFS zu erfassen. Hierfür eignen sich vor allem die ausschließlich titrimetrischen Verfahren.

Wenn sich auch eine vergrößerte Fehlerbreite nicht ausschließen läßt, so bietet doch die von uns durchgeführte Methodik der präparativen Darstellung der UFS gegenüber der rein summarischen Bestimmung titrimetrischer Verfahren den Vorteil, neben der quantitativen Bestimmung der UFS diese in ihrer qualitativen Zusammensetzung analysieren zu können.

Wie aus Tabelle XIV hervorgeht, stellen Palmitinsäure mit einer mittleren Konzentration von 27,9 %, Stearinsäure mit einer solchen von 14,5 % und Ölsäure mit 27,3 % den Hauptanteil der UFS des Serums bei Gesunden. Aus Tabelle XIV ist ferner ersichtlich, daß die Konzentration der Gesamt-UFS-Fraktion und der einzelnen UFS von Person zu Person erheblich wechselt. Beim Vergleich der von uns gefundenen Mittelwerte für die einzelnen unveresterten Fettsäuren mit den von anderen Untersuchern angegebenen Werten, zeigt sich eine gewisse Übereinstimmung (siehe Tabelle XV). Auffallend hohe Konzentrationen der UFS konnten Miller u. Mitarb. (73) im arteriellen Blut von Hunden nachweisen. Aber auch hier machen Palmitinsäure und Ölsäure den Hauptanteil der UFS aus (73). Gegenüber den von uns gefundenen Werten für Palmitinsäure und Ölsäure liegen die von Dole 1956 ermittelten Konzentrationen deutlich höher (32). Zum Teil mag dies darauf zurückzuführen sein, daß bei der von Dole (33,37) angewandten Methodik auch Phospholipide miterfaßt werden. Die von Dole u. Mitarb. 1959 angegebenen Konzentrationen der UFS sind demgegenüber wesentlich niedriger und den von uns gefundenen Werten angenähert (36). Lediglich die Konzentrationen von Ölsäure und Linolsäure liegen um ein geringes höher. Eine auffallend hohe Ölsäurekonzentration fanden Chlouverakis u. Mitarb. (26); jedoch wurden die von ihnen gefundenen Konzentrationen im arteriellen Blut gemessen und sind daher nicht ohne weiteres mit den übrigen Ergebnissen vergleichbar. Die von Gellhorn u. Marks (47) wie auch von Schrade u. Mitarb. (88) bestimmten UFS des Fettgewebes zeigen ähnliche Konzentrationen wie die von uns und anderen Untersuchern im Nüchternserum bestimmten UFS.

C) ZUSAMMENFASSUNG

Es wird ein saulenchromatographisches Verfahren beschrieben, bei dem mit dem Ionenaustauscher IR 45 nach vorheriger Abtrennung der Phospholipide eine einwandfreie Darstellung der UFS des Blutserums erzielt wird. Das Verfahren ermöglicht nicht nur eine quantitative Bestimmung der UFS durch Wiegen und Titration, sondern eignet sich in erster Linie für die Darstellung dieser Fettsäurefraktion zu analytischen Zwecken, beispielsweise zur Ermittlung ihrer qualitativen Zusammensetzung durch Gaschromatographie.

Die mit Hilfe der beschriebenen Methodik aus dem Nüchternserum von 17 Stoffwechselgesunden aufgearbeiteten UFS wurden gaschromatographisch analysiert.

A u t o r e n	Lit.	Jahr	Methode	n	UFS	
					MW	$\pm s$
					mval/l.	
Grossman u. Mitarb.	55	1955	Davis-Grossman	10	0,510	0,110
Dole	33	1956	Dole	8	0,943	0,240
Laurell	66	1956	Davis-Grossman	15	0,630	0,120
Bierman u. Mitarb.	5	1957	Dole	40	0,572	0,280
Carlson u. Wadström	21	1958	Carlson u. Wadström	10	0,670	0,100
Ciswicka u. Mitarb.	27	1958	Davis-Grossman	15	0,333	0,101
Mendelsohn	72	1958	Mendelsohn	20	0,300	0,113
Svanborg u. Svennerholm	98	1958	Svanborg u. Svennerholm	21	0,690	0,188
Böhle	13	1959	Dole	100	0,633	0,123
Cardon u. Gordon	20	1959	Gordon	15	0,291	0,103
Munkner	74	1959	Dole	120	0,571	0,122
Munkner	75	1959	Dole	21	0,607	0,094
Stormount u. Mackie	96	1959	Dole	22	0,768	0,197
Stuhlfaut u. Zöllner	97	1959	Dole	20	0,526	0,183
Lipsett u. Mitarb.	69	1960	Gordon	9	0,477	0,185
Schulze u. Salemi	90	1960	Dole	100	0,670	0,220
Wajchenberg u. Mitarb.	101	1960	Davis	12	0,504	0,170
Corvilain u. Mitarb.	30	1961	Dole	122	0,699	0,199
			(Kinder)	30	0,448	0,140
			(Erwachsene)	105	0,558	0,228
Knorr u. Mitarb.	65	1961	Dole	(Kinder)		
Schrade u. Mitarb.	89	1961	Dole-Trout	381	0,593	0,171
Svanborg u. Svennerholm	98a	1961	Svanborg u. Svennerholm	47 ♂ 15 ♀	0,750 0,781	0,233 0,174
Carlsten u. Mitarb.	23	1962	Svanborg u. Svennerholm	12	0,790	0,200
Böhle	14a	1962	Dole-Trout	430 ♂	0,599	0,134

Tabelle I: UFS-Gehalt des Blutplasma oder -serums bei Gesunden.

Testsubstanzen	Hersteller	12:10	14:10	16:10	16:11	18:10	18:11	18:12	18:13	20:10	20:11	20:14	22:10	R C ₁₃ , 15, 17	Mittleres Molekular- gew. auf Grund Gas- chrom.-Analyse	
	MO:	200,3	228,4	256,4	254,4	284,5	282,5	280,4	278,4	312,5	310,5	304,5	340,6	246,0		
"Linolsäure"	Hoffmann la Roche		0,2	0,9		0,1	13,6	84,2	0,8					0,2	280,3	
"Linolensäure"	Höchsteler Farbwerke		0,1	2,2		0,8	5,7	15,3	75,2					0,7	278,3	
"Palmitinsäure"	Merck		3,7	84,3		9,9	0,8							1,3	258,2	
"Stearinsäure"	Merck		0,2	44,7		50,9	2,4	0,4					0,3	1,1	271,4	
"Ölsäure"	Merck		0,9	4,0	4,7	7,7	1,0	72,0	6,7					1,3	275,8	
P M D	Nattermann		0,1	0,1	6,3	2,9	17,3	69,5	3,0					0,8	272,4	
lecithin 1.v. (durch Dialyse gereinigt)	Nattermann		0,1	22,7	1,0	5,5	12,9	55,0	2,1					0,7	274,0	
lecithin ex ovo (durch Dialyse gereinigt)	Merck		0,3	29,2	7,9	6,2	48,0	6,3	0,2					1,0	272,4	
Cholesterin	Merck														0,9	272,4
Cholesteryl- palmitat	Prof. Butenandt		100,0													256,4
"Behensäure"	Merck					0,3	0,3	0,2					34,5			330,0
"Triolein"	Merck		0,1	0,2		0,3	98,9						64,2	0,5		282,2

Die Gaschromatographischen Analysen wurden von Herrn Dr. med. H. Böhle im Labor der I. Medizinischen Universitätsklinik Frankfurt durchgeführt.

Tab. III: Titrimetrische Bestimmung der UFS nach Dole bei UFS-Verdünnungen.

	Titrationwert aus 1 ml abzüglich Leerwert (=15) (Mittel v. 5 Bestimmungen)	Errechneter Titrationwert	Differenz
Palmitinsäurestandard (nach Dole) 0,5 mval/l = 15,5 mg%	168		
	167		
Stearinsäurestandard (nach Dole) 0,6 mval = 16,3 mg%	166		
<u>Bestimmung des UFS</u>			
jeweils 20 mg/100 ml Heptan			
Palmitinsäure 0,773 mval/l	215	216	1 = 0,5%
Stearinsäure 0,736 mval/l	199	203	4 = 2,0%
Ölsäure 0,725 mval/l	199	202	3 = 1,5%
Linolsäure 0,713 mval/l	190	198	8 = 4,0%
Behensäure 0,605 mval/l	172	168	4 = 2,4%
Mittelwert			= 2,1%

Tabell IV: Festlegung der Elutionsmengen.

Einwaage 8,4 mg Stearinsäure
Lösungsmittel in ccm
(essigsaures Methanol)

eluierte Fett säure mengen
gravimetrisch titrimetrisch
(Eluate gelöst in 50 ml Heptan)

mg	% d. Einwaage	mg	% d. Einwaage
50 ccm	3,3	3,3	35,7
50 ccm	1,8	1,8	22,6
50 ccm	1,6	1,6	19,7
50 ccm	0,8	0,8	8,9
50 ccm	0,7	0,7	6,5
50 ccm	0,6	0,6	1,8
50 ccm	0,0	0,0	0,0
50 ccm	0,0	0,0	0,0
gesamt:	8,8-0,55	104,7	93,5
	= 8,25	98,2	
		7,85	

Einwaage 15,6 mg Palmitinsäure

eluierte Fett säure mengen
gravimetrisch titrimetrisch
(Eluate gelöst in 100 ml Heptan)

mg	% d. Einwaage	mg	% d. Einwaage
50 ccm	8,9	8,9	53,2
50 ccm	2,5	2,5	14,1
50 ccm	1,8	1,8	12,2
50 ccm	1,2	1,2	6,4
50 ccm	0,9	0,9	5,1
50 ccm	0,7	0,7	1,9
50 ccm	0,0	0,0	0,0
50 ccm	0,0	0,0	0,0
gesamt:	16,0-0,55	102,6	92,9
	= 15,45	99,0	

Prot.- -Nr.	Testfett- säuren	Einwaage mg	Elution abzgl. 0,55 mg	Titration mg		% der Einwaage
				Eluat in 100 ml Heptan gelöst		
3	Palmitins.	20,0	20,0	100,0	19,0	95,0
4	Palmitins.	20,0	20,0	100,0	20,0	100,0
20	Palmitins.	10,7	10,0	93,4	9,2	86,0
21	Palmitins.	10,7	10,6	99,0	10,2	95,3
22	Palmitins.	9,85	9,6	97,5	9,7	98,6
23	Palmitins.	9,85	9,73	98,8	9,6	97,5
			MW	98,1	MW	95,9
24	Linols.	14,5	14,3	98,6	14,8	102,0
25	Linols.	14,5	13,4	92,5	13,8	95,1
38	Linols.	7,07	6,7	95,0	6,45	91,2
39	Linols.	7,07	7,0	99,0	6,8	96,2
			MW	96,3	MW	96,1
1	Stearins.	19,7	19,3	98,0	18,9	95,9
12	Stearins.	17,05	16,3	95,6	15,6	91,4
13	Stearins.	17,05	16,9	99,1	16,2	95,0
			MW	97,6	MW	94,1
26	Ölsäure	14,35	14,9	99,6	13,7	97,7
27	Ölsäure	14,95	14,3	95,6	13,2	88,2
40	Ölsäure	11,5	10,8	94,0	11,9	103,4
41	Ölsäure	11,5	11,8	102,5	11,2	97,4
7	Ölsäure	15,5	14,8	95,5	14,5	93,5
			MW	97,4	MW	96,0
2	Behensäure	15,3	15,1	98,6	14,7	96,0
16	Behensäure	22,3	22,2	99,5	20,7	92,7
17	Behensäure	22,3	21,2	95,0	19,9	89,2
			MW	97,7	MW	92,6
		Gesamt -	MW	97,5	Gesamt-MW	95,3
			± s	2,6	± s	4,5

Tabelle V

[illegible]

Tabelle VII: Wiedergewinnung verschiedener Mono-, Di- und Triglyceride, von freiem Cholesterin und von Cholesterinestern aus einer Amberlite-Säule durch Elution mit Methanol.

Prot. Nr.	Testsubstanz	Eingesetzt mg	Aus Eluat (Methanol) gewonnen mg	%
42	Monopalmitat	35,1	35,2	100,0
43	Monopalmitat	35,1	34,9	99,5
44	Monopalmitat	35,1	34,0	96,9
45	PMD	30,4	29,2	96,7
46	PMD	30,4	30,0	98,7
47	PMD	30,4	30,6	100,7
	MW			98,7
48	Triolein	31,2	29,8	95,5
49	Triolein	30,0	29,4	98,0
50	Triolein	28,2	27,6	97,8
51	Tripalmitat	50,5	50,9	100,8
52	Tripalmitat	50,5	49,6	98,2
53	Tripalmitat	50,5	49,6	98,2
	MW			98,1
54	Cholesterin	25,7	26,0	101,1
55	Cholesterin	24,2	24,8	102,5
56	Cholesterin	24,2	23,7	97,1
	MW			100,4
57	Chol.-palmitat	40,5	39,1	96,6
58	Chol.-palmitat	40,5	39,0	96,3
59	Chol.-palmitat	40,5	40,9	101,0
	MW			98,0

Nr.	Prot.-Testsubstanz	Einwaage		Methanol		essigs. Methanol		Zusammen		Titrationswert (Fluat aus essigs. -saurem Methanol abzögl. Leerwert Fluat/10ml Heptan)	Titrationswert entsprechend mval/l (n.Dole)	TFS
		mg		mg	%	mg	%	mg	%			
60	Lecithin ex ovo	40,2		33,8	84,1	4,0	10,0	37,8	94,3			
61	Lecithin ex ovo	40,2		33,8	84,1	4,1	10,2	37,9	94,4			
62	Lecithin ex ovo	40,2		33,0	82,1	5,2	12,9	38,2	95,0			
63	Lecithin ex ovo	50,0		43,2	86,4	6,2	12,4	49,4	98,8			
64	Lecithin ex ovo	50,0		41,9	83,8	7,4	14,8	49,3	98,6			
65	Lecithin ex ovo	50,0		41,6	83,2	7,1	14,2	48,7	97,4			
	Mittelwert	45,1		37,9	84,0	5,8	12,8	43,7	96,7			
66	Lecithin p. i.	31,50		28,2	89,5	0,9	2,9	29,1	92,4	13	0,047	1,92
67	Lecithin p. i.	37,85		32,0	84,6	1,8	4,8	33,8	87,1	34	0,122	3,34
68	Lecithin p. i.	37,85		31,6	83,5	1,7	4,5	33,3	88,0	27	0,097	2,67
69	Lecithin p. i.	23,00		20,5	89,1	1,5	6,5	22,0	95,7	24	0,086	2,37
70	Lecithin p. i.	23,00		18,6	81,0	1,3	5,7	19,9	86,5	16	0,057	1,57
	Mittelwert	30,64		26,2	85,5	1,4	4,7	27,6	90,0	23		0,23

Prot. Nr.	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	R
	Lecithin nativ (Nattermann)							
	0,1	22,7	1,0	5,5	12,9	55,0	2,1	0,7
66		24,1	1,0	4,9	11,7	55,6	2,0	0,7
67	0,2	23,6	1,3	3,9	10,5	57,2	2,3	1,0
68	0,2	24,3	1,2	4,7	10,2	56,1	2,4	0,9
69		24,5	1,5	5,1	11,4	54,5	1,9	1,1
70	0,1	23,7	1,3	5,0	11,5	55,8	2,1	0,5
	Mittelwert							
	0,1	24,0	1,3	4,7	11,1	55,9	2,1	0,8

Tabelle IX

Table X

Prot.	Substanz	Zinnmenge mg	Gravimetrisch Klative Methanol	aus essigs. Meth.	titrimetrisch Titr.-wert -Blindwert UFS Goldwert in 50 ml	Differenz grav.-titr.	Fettsäurezusammensetzung der Methyl-Butyrate-Fraktion						
Nr.		mg	%	%	mg	%	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	20:0	Rest
71	Triolein + Linols.	33,0 2,7	32,8	99,5	2,5	93,0							
72	Triolein + Linols.	41,5 3,2	42,0	101,0	3,0	97,6							
73	Triolein + Palmitins.	20,2 4,0	20,6	102,0	3,6	90,0							
74	Cholesterin + Linols.	27,4 2,8	25,1	91,6	2,6	92,8							
75	Cholesterin + Palmitins.	27,4 2,1	25,9	94,5	2,2	104,5							
76	Cholesterin + Palmitins.	27,4 2,1	25,0	91,2	2,0	95,3							
77	Triolein + Stearins.	33,95 6,25	34,1	100,5	8,2	98,2							
78	Triolein + Stearins.	33,95 8,35	32,3	95,3									
79	Triolein + Palmitins.	33,85 10,7	33,1	98,0	8,1	97,0							
80	Triolein + Palmitins.	33,85 10,7	34,4	101,2	10,0	93,5							
81	Triolein + Palmitins.	33,6 9,85	34,7	97,5	10,6	99,1							
82	Triolein + Palmitins.	35,6 2,85	35,0	98,4	9,6	97,5							
					9,73	96,8							
					97,4								
					201	9,35	94,2	-38	-2,9				
						95,5							
							3,6	85,5	9,4	0,7			1,0

Prot. Nr.	UFS aus 6 ml Serum		Testfette. - (=Steirins.)		grav. best.		titrimetr. test. +		Differenz			
	gravimetr. (-0,55mg)	Titr.-wert (UFS in 10ml Heptan mg)	Zusatz in gesamt mg	mg	mg	%	Titr.-Wert aus UFS in 10ml Heptan mg	Titr.-Wert entspr. UFS %	Grav. -	titr. mg		
83	1,8	177	1,78	38,9	3,8	5,6	5,8	103,6	555	5,58	99,6	-0,22
84	2,2	220	2,21	100,5	2,5	4,7	4,2	89,4	470	4,72	100,4	+0,52
85	1,8	169	1,70	94,4	4,2	6,0	5,9	98,3	581	5,84	91,3	-0,06
86	1,7	165	1,66	97,6	5,4	7,1	7,0	98,6	682	6,85	96,5	-0,15
87	2,3	219	2,20	95,7	5,1	7,4	7,4	100,0	705	7,09	95,8	-0,31
88	1,8	172	1,75	96,1	5,8	7,6	7,5	98,7	734	7,38	97,1	-0,22
								98,1			97,8	

+ Der Berechnung der UFS in mg aus den Titrationswerten wurde ein mittleres Molekulargewicht von 270 zugrunde gelegt.

Zu Nr. Testfettsäure („Steatins.“)	12:0	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:4	20:5	22:6	R
83	UFS nativ 1,8mg UFS + Testfts. 5,6 mg	0,2 1,6 0,1	28,4 44,7	6,7 2,6	9,2 4,4	36,2 13,7	10,0 3,2	1,1 0,6	2,5 0,7	0,7 0,2	0,0 0,3	2,5 1,0
84	UFS nativ 2,2mg UFS + Testfts. 4,7 mg	0,5 2,8 0,1	26,5 35,1	5,9 1,9	12,4 34,7	30,5 13,8	12,7 7,2	0,9 0,2	3,1 1,7	0,5 --	1,1 0,4	3,1 3,0
85	UFS nativ 1,8mg UFS + Testfts. 6,0 mg	0,7 2,1 0,4	27,4 38,3	6,7 2,1	15,1 39,7	33,0 11,8	9,2 3,2	0,9 0,5	1,6 0,6	0,5 0,3	1,1 0,6	1,7 1,8
86	UFS nativ 1,7mg UFS + Testfts. 7,1 mg	0,2 1,3 --	28,9 39,5	8,1 2,2	12,0 41,4	35,4 10,8	8,7 2,5	0,9 0,3	1,2 0,3	0,4 0,3	0,9 0,3	2,0 1,7
87	UFS nativ 2,3mg UFS + Testfts. 7,4 mg	1,1 3,4 0,4	29,5 40,6	5,4 2,5	14,3 36,6	26,1 9,6	12,3 4,3	1,1 0,6	2,7 1,0	0,6 0,1	1,4 0,5	2,1 2,0
88	UFS nativ 1,8mg UFS + Testfts. 7,6 mg	0,5 1,7 --	26,5 39,2	4,8 1,7	13,8 40,5	39,1 12,3	8,4 2,5	0,7 0,3	1,4 0,5	0,3 0,3	0,8 0,4	2,0 1,4
() = rechnerisch ermittelt.												

a) gravimetrisch

Differenz aus Doppelbestimmungen = di

	<u>mg/5 ml Serum</u>	<u>mg%</u>
1.	0,05	1
2.	0,15	3
3.	0,15	3
4.	0,05	1
5.	0,00	0
6.	0,20	4
7.	0,00	0
8.	0,10	2
9.	0,05	1
10.	0,15	3
11.	0,15	3
12.	0,05	1
		di ² = 60

MW = 23,8 mg%; s.e. = 1,58 mg% entspr. 6,64% d. MW.

b) titrimetrisch

Differenz aus Doppelbestimmungen = di

	<u>mg/5 ml Serum</u>	<u>mg%</u>
1.	0,060	1,2
2.	0,070	1,4
3.	0,040	0,8
4.	0,120	2,4
5.	0,060	1,2
6.	0,070	1,4
7.	0,090	1,8
8.	0,110	2,2
9.	0,090	1,8
10.	0,080	1,6
11.	0,110	2,2
12.	0,070	1,4
		di ² = 33,88

MW = 24,5 mg%; s.e. = 1,19 mg% entspr. 4,86% d. MW.

Nr.	GL mg%	UFS mg%	C ₁₂ ⁰	C ₁₄ ⁰	C ₁₄ ¹	C ₁₆ ⁰	C ₁₆ ¹	C ₁₈ ⁰	C ₁₈ ¹	C ₁₈ ²	C ₁₈ ³	C ₂₀ ³	C ₂₀ ⁴	R
1	740	21	0,36	3,32	0,97	23,53	11,90	10,82	23,13	13,56	0,87	1,90	4,98	4,75
2	696	23	0,12	4,24	0,59	30,71	8,44	8,81	28,42	7,14	0,13	1,66	5,50	4,24
3	615	12	0,64	3,12	0,97	33,88	7,26	14,75	19,67	12,60	0,18	0,90	2,41	3,62
4	815	30	0,17	3,53	Sp.	27,84	6,29	14,43	28,70	15,23	---	---	1,83	2,07
5	640	16	0,37	1,86	Sp.	23,95	3,71	13,18	32,42	16,28	0,71	1,21	3,70	2,61
6	724	22	0,64	4,03	Sp.	24,82	5,45	15,98	30,64	12,91	0,67	0,45	1,92	2,49
7	865	32	0,76	2,58	0,30	24,69	3,72	16,34	25,25	16,70	0,97	1,57	2,33	2,29
8	700	20	2,51	9,45	0,68	31,67	5,40	8,46	26,52	7,93	2,13	---	2,41	2,84
9	720	21	Sp.	2,87	Sp.	34,51	6,71	15,31	28,54	5,56	1,98	0,13	1,95	1,44
10	794	24	Sp.	2,84	Sp.	32,00	5,24	7,62	36,16	11,13	1,50	0,62	2,39	1,50
11	710	17	0,70	1,90	0,50	28,32	4,25	20,11	22,09	16,32	1,20	---	2,27	2,34
12	858	20	0,16	3,18	1,27	25,71	6,75	16,35	29,75	10,67	0,40	0,84	2,11	2,81
13	800	27	0,79	2,46	0,82	25,46	6,77	17,47	30,76	9,01	0,50	0,94	2,02	3,11
14	740	19	0,55	3,41	1,00	27,13	8,63	18,83	20,31	12,74	0,20	0,80	4,65	3,75
15	780	24	0,20	2,93	0,85	25,47	4,91	15,19	27,74	14,93	0,35	1,25	3,81	3,77
16	725	21	0,31	2,77	0,20	27,43	5,14	16,12	26,81	15,18	0,52	0,91	2,56	2,05
17	802	25	0,15	3,10	0,60	26,43	3,23	15,63	27,90	14,35	0,96	0,77	2,23	3,74
MW	743	22	0,50	0,39	0,51	27,85	6,11	14,46	27,34	12,48	0,78	0,82	2,99	2,77

Tab. XIV:

Gehalt des Serums an Gesamtlipiden, der Gesamtheit der unveresterten Fettsäuren in mg% und der Anteile der verschiedenen UFS in % der Gesamt-UFS-Fraktion. Untersuchungen an 17 Stoffwechselgesunden.

GL = Gesamt-Lipide, UFS = unveresterte Fettsäuren, R = Summe aller übrigen Fettsäuren.
11 Fraktionen unveresteter Fettsäuren, Sp. = Spur, weniger als 0,01%.

A U T O R E N

Jahr Lit.

12:0

14:0

16:0

18:1

18:2

20:3

20:4

22:15

22:16

R

U F S

1. Dole

1956 32.

venös

34,0

6,0

54,0

1,3

4,7

2,9

3,1

4,3

3,2

3,1

4,5

23,0

14,5

6,8

7,9

10,8

2,9

1,8

2,3

1,9

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3

1,2

1,8

3,1

4,5

2,3

1,3</

F) L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Albrink, M.J., I.R. Fitzgerald a. E.B. Man: Reduction of alimentary lipemia by glucose, *Metabolism* 7, 162 (1958)
2. Anfinsen, C.B.: Biochemical aspects of atherosclerosis, *Fed. Proc.* 15, 894 (1956)
3. Ballard, F.B., W.H. Danforth, S. Naegle a. R.J. Bing: Myocardial metabolism of fatty acids, *J. Clin. Invest.* 39, 717 (1960)
4. Beers, G.J., van, H. De Jongh a. J. Boldingh: Isolation of phospholipids by dialysis through a rubber membrane, in "Essential Fatty Acids", London (1958)
5. Biermann, E.L., V.P. Dole a. T.N. Roberts: An abnormality of non-esterified fatty acid metabolism in diabetes mellitus, "*Diabetes*" 6, 475 (1957)
6. Biermann, E.L., J.L. Schwartz a. V.P. Dole: Action of insulin on relax of fatty acids from tissue stores, *Amer. J. Physiol.* 191, 359 (1957)
7. Biermann, E.L., V.P. Dole a. T.N. Roberts: An abnormality of non-esterified fatty acid metabolism in diabetes mellitus, "*Diabetes*" 7, 189 (1958)
8. Biermann, E.L., C. Rich a. J.L. Schwartz: Plasma non-esterified fatty acids in hyperthyroid states, *Fed. Proc.* 17, 14 (1958)
- 8a. Biegler, R.: Bestimmung und Zusammensetzung der UFS des Blutes. *Med. und Ernähr.* 1, 27 (1960)
9. Bing, R.J., A. Siegel, J. Ungar a. M. Gilbert: Metabolism of the human heart. II. Studies on fat, ketone and amino acid metabolism; *Amer. J. Med.* 16, 504 (1954)
10. Bloor, W.R.: Oxidative determination of phospholipid (lecithin and cephalin) in blood and tissues, *J. Biol. Chem.* 82, 273 (1929)
11. Bogdonoff, M.D., A.M. Weissler a. F.L. Merritt: The effect of autonomic ganglionic blockade upon serum free fatty acid levels in man, *J. Clin. Invest.* 6, 359 (1960)

12. Bogdonoff, M.D., E.H. Estes a. D. Trout: Acute effect of psychologic stimuli, Proc. Soc. Exp. Biol. 100, 503 (1959)
13. Böhle, E.: Untersuchungen über den Fett- und Intermediärstoffwechsel bei der Arteriosklerose, in: Emmrich, R. u. E. Perlick "Gefäßwand und Blutplasma", VEB G.Fischer, Jena 1959 S 99
- 13a. Böhle, E., Biegler, R. und Teicke, R.: Untersuchungen über die Regulationen der unveresterten Fettsäuren des Blutserums bei der vegetativen Gesamtschaltung; aus Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin, 68. Kongreß 1962
14. Böhle, E.: Unveröffentlicht
- 14a. Böhle, E.: Habil.-Schrift, Frankfurt/M. 1963
- 14b. Böhle, E., E. Harmuth: Über die Fettsäurezusammensetzung der Lipidfraktionen des Blutserums bei verschiedenen Hyperlipidämien Z. klin. Chem. 1, 83 (1963)
15. Borgström, B.: Investigation on lipid separation methods. Separation of cholesterol esters, glycerides and free fatty acids. Acta Physiol. Scand. 25, 111 (1952) b
16. Borgström, B. Investigation on lipid separation methods. III. Separation of tri-, di-, 1-mono- and 2-mono-glycerides. Acta Physiol. Scand. 30, 231 (1954)
17. Böttcher, C.J.F., F.P. Woodford, E. Boelsma van Houte a. C.M. van Gent: Methods for the analysis of lipids extracted from human arteries and other tissues, Trav. chim. Pays-Bas 78, 744 (1959)
18. Bragdon, J.H. a. R.S. Gordon: Tissue distribution of C_{14} after the intravenous injection of labelled chylomicrons and unesterified fatty acids in the rat, J. Clin. Invest., 37, 574 (1958)
19. McCalla, G., H.S. Gates a. R.S. Gordon: $C_{14}O_2$ excretion after the intravenous administration of albumin-bound palmitate-1- C_{14} in intact rats, Arch. Biochem. 71, 346 (1957)

20. Cardon, P.V. a. R.S. Gordon: Rapid increase of plasma un-
esterified fatty acids in man during fear,
J. Psychosomatic Res. 4, 5 (1959)
21. Carlson, L.A. a. I.B. Wadström: A colorimetric method of
determining unesterified fatty acids in
plasma, J.Clin.Lab.Invest. 10, 407 (1958)
22. Carlson, L.A. a. B. Pernow: Studies on blood lipids
during exercise.I.Arterial and venous plasma
concentrations of unesterified fatty acids,
J. Lab. Clin. Med. 53, 833 (1959)
23. Carlsten, A., B. Hallgren, R. Jagenburg, A. Svanborg a.
L. Werkö: Myocardial metabolism of glu-
cose, lactic acid, amino acids a. fatty
acids in healthy human individuals at rest
and at different work loads, Scand. J.
Clin. Lab. Invest. 13, 418 (1961)
- 23a. Carlsten, A., B. Hallgren, R. Jagenburg, A. Svanborg,
L. Werkö: Arterial concentrations of free
fatty acids and free amino acids in healthy
human individuals at rest and at different
work loads. Scand. J. Clin. Lab. Invest.
14, 185 (1962)
24. McCarthy, R.D. a. A.H. Duthie: A rapid quantitative method
for the separation of free fatty acids
from other lipids: J. Lipid Research,
3, 117 (1962)
25. Cason, J., G. Sumrell and R.S. Mitchell: Branches - chain
fatty acids. XV syntheses of dimethyl-
hexadecanoic acids. Further study of the
cadmiumreaction and of the Huang-Minlon
reduction, J. org. Chem. 15, 850 (1950)
26. Chlouverakis, C. a. P. Harris: Composition of the free
fatty acid fraction in the plasma of
human arterial blood, Nature 4756, 1111
(1960)
27. Ciswicka, M., A. Michajlik a. M. Sznajderman: Studies on
the lipolytic activity of blood serum in
atherosclerosis, Acta Med. Scand. 161,
391 (1958)

28. Cohn, E.J., W.L. Hughes jr. a. J. Weare: Preparation and properties of serum and plasma proteins. XIII. Crystallization of serum albumins from ethanol-water mixtures, J. Amer. Chem. Soc. 52, 1753 (1947)
29. Coleman, C.M. a. Middlebrock, G.: Interface enrichment of methylene blue by fatty acids with micro-analytic applications, Science 126, 163 (1957)
30. Corvilain, J., B. Loeb, A. Champenois a. M. Abramow: Effect of fasting on levels of plasma non-esterified fatty acids in normal children, normal adults and obese patients, Lancet 7176, 534 (1961)
31. Davis, B.D.: The estimation of small amounts of fatty acids in the presence of polyoxyethylene scrubitan partial fatty acid esters ("Tween") and of serum proteins, Arch. Biochem. 15, 351 (1947)
32. Dole, V.P.: Fractionation of plasma non-esterified fatty acids, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 93, 532 (1956)
33. Dole, V.P.: A relation between non-esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose, J. Clin. Invest. 35, 150 (1956)
34. Dole, V.P., E.L. Biermann a. T.N. Roberts: Plasma NEFA as an index of carbohydrate utilization, J. Clin. Invest. 36, 884 (1957)
35. Dole, V.P.: The significance of non-esterified fatty acids in plasma, Acad. Med. 34, 21 (1958)
36. Dole, V.P., A.T. James, J.P.W. Webb, M.A. Rizack a. M.F. Starman: The fatty acid patterns of plasma lipids during alimentary lipaemia, J. Clin. Invest. 38, 1544 (1959)
37. Dole, V.P., H. Meinertz: Microdetermination of long-chain fatty acids in plasma and tissues, J. Biol. Chem., 235, 2595 (1960)

38. Engel, H.R., L. Hallman, S. Siegel, and D. Bergenstal:
Effect of growth hormone on plasma unesterified fatty acid levels of hypophysectomized rats. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 98, 753 (1958)
39. Engelberg, H.: Effect of epinephrine upon plasma optical density, unesterified fatty acids, lipemia clearing and heparin levels, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 100, 492 (1959)
40. Fillerup, D.L. a. J.F. Mead: Chromatographic separation of the plasma lipids, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 83, 574 (1953)
41. Fredrickson, D.S.: Some biochemical aspects of lipid and lipoprotein metabolism:
J. Amer. Med. Ass. 164, 1895 (1957)
42. Fredrickson, D.S. a. R.S. Gordon: The metabolism of albumine bound C₁₄-labelled unesterified fatty acids in normal human subjects, J. Clin. Invest. 37, 1504 (1958)
43. Fredrickson, D.S. a. R.S. Gordon: Transport of fatty acids, Physiol. Rev. 38, 585 (1958)
44. Fredrickson, D.S., D.L. McCollister a. K. Ono: The role of unesterified fatty acid transport in chylomicron metabolism, J. Clin. Invest. 37, 1333 (1958)
45. Friedberg, S.J., W.R. Harlan, D.L. Trout a. E.H. Estes:
The effect of exercise on the concentration and turnover of plasma unesterified fatty acids, J. Clin. Invest. 39, 215 (1960)
46. Fritz, I.B., D.G. Davis, R.H. Holtrop a. H. Dundee: Fatty acid oxydation by sceletal muscle during rest and activity, Amer. J. Physiol. 194, 379 (1958)
47. Gellhorn, A. a. P.A. Marks: The metabolism of human adipose tissues in vitro, Drugs Affecting Lipid Metabolism, Sympos. Milan 1960, S. 53
48. Goodman, W.S., a. R.S. Gordon: The metabolism of plasma unesterified fatty acids, Amer. J. Clin. Nutr. 6, 669 (1958)

49. Goodman, H.M. a. E. Knobre: Mobilization of fatty acids by epinephrine in normal and hypophysectomized rhesus monkeys, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 100, 195 (1959)
50. Gordon, R.S. a. A. Cherkes: Unesterified fatty acids in human blood plasma, J. Clin. Invest. 35, 206 (1956)
51. Gordon, R.S., A. Cherkes a. H. Gates: Unesterified fatty acids in human blood plasma. II. The transport function of unesterified fatty acids, J. Clin. Invest. 36, 810 (1957)
52. Gordon, R.S.: Group discussion to E.L. Bierman et al., Diabetes 7, 190 (1958)
53. Gordon jr. R.S. a. A. Cherkes: Production of unesterified fatty acids from isolated rat adipose tissue incubated in vitro, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 97, 150 (1958)
54. Grossman, M., L. Palm, C.H. Becker and H.C. Moeller: Effect of lipemia and heparin on free fatty acid content of rat plasma. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 87, 312 (1954)
55. Grossman, M., H.C. Moeller a. L. Palm: Effect of lipemia and heparin on free fatty acids concentration of serum in humans, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 90, 106 (1955)
- 55a. Hallgren, B., A. Svanborg: The separation of free fatty acids (FFA) from human plasma lipids. Gaschromatographic analysis of free fatty acid composition in healthy human individuals. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 14, 179 (1962)
56. Hanahan, D.J.: Lipide Chemistry, John Wiley a. Sons, Inc , New York, 1960, p.14
57. Hashim, S.A. a. T. van Itallie: Effect of intravenous amino acids on plasma non-esterified fatty acids, Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 100, 576 (1959)
58. Havel, R.J. a. D.S. Fredrickson: The metabolism of chylomicra. I. The removal of palmitic acid-1-C₁₄ labelled chylomicra from dog plasma, J. Clin. Invest. 35, 1025 (1956)

59. Havel, R.J. a. A. Goldfinch: The role of the sympathetic nervous system in the metabolism of free fatty acids, *J. Lip. Res.* 1, 102 (1959)
60. Hirsch, J., a. E.H. Ahrens: The separation of complex lipide mixtures by the use of silicic acid chromatography. *J. Biol. Chem.* 233, 311 (1958)
61. Hoppe-Seyler, F.: Über Seifen als Bestandteile des Blutplasmas und des Chylus, *Z. physiol. Chem.* 8, 503 (1883/84)
62. Hornstein, I., J.A. Alford, L.F. Elliott, P.F. Crowe: Determination of free fatty acids in fat. *Anal. Chem.*, 32, 540 (1960)
63. James, A.T., Lovelock, J.E., Webb, J., a. Trotter, W.R.: The fatty acids of the blood in coronary artery disease, *Lancet* 1, 705 (1957)
64. Kendall, F.E.: Human serum proteins. II. Crystallization of human serum albumin, *J. Biol. Chem.* 138, 97 (1941)
65. Knorr, D., K.G. Liebrich, H. Baitsch: Über das Verhalten der freien Fettsäuren des Blutes im Kindesalter. I. Das Verhalten des Nüchternwertes bei stoffwechselgesunden Kindern, bei hypophysärem Zwergwuchs, bei Hypothyreose und bei der Präpubertätsfettsucht, *Klin. Wschr.* 39, 1143 (1961)
66. Laurell, S.: Plasma free fatty acids in diabetic acidosis and starvation, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 8, 81 (1956)
67. Laurell, S.: Turnover rate of unesterified fatty acids in human plasma, *Acta physiol. Scand.* 41, 158 (1957)
68. Leboeuf, B., R.B. Flinn a. G.F. Cahill: Effect of epinephrine on glucose uptake and glycerol release by adipose tissue in vitro, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 102, 527 (1959)
69. Lipsett, M.B., H.R. Engel a. D.M. Bergenstal: Effects of glucagon on plasma unesterified fatty acids and in nitrogen metabolism, *J. Lab. Clin. Med.* 3, 342 (1960)

70. Lipsky, S.R., Haavik, A., Hopper, C.L., a. McDivitt, P.W.: The biosynthesis of the fatty acids of the plasma of man. I. The formation of certain chromatographically separated higher fatty acids of the major lipid complexes from acetate- $1-C_{14}$, J. Clin. Invest. 36, 233 (1957)
71. Mehnert, H., L. Pelikan u. N. Zöllner: Über die Konzentration der freien Fettsäuren im Serum von Diabetikern und Fettsüchtigen, Klin. Wschr. 37, 888 (1961)
72. Mendelsohn, D.: A colorimetric method for the determination of microamounts of higher fatty acids (C_{12} - C_{18}) in blood, S. Afr. J. med. Sci. 23, 75 (1958)
73. Miller, H.I., M. Gold, J.J. Spitzer: Removal and mobilization of individual free fatty acids in dogs, in press
- 73a. Moore, C.H., R.P. Cook: Human adipose tissue. Biochem. J. 73, 43 (1959)
74. Munkner, C.: Fasting concentrations of non-esterified fatty acids in diabetic and non-diabetic plasma and diurnal variations in normal subjects, Scand. J. Clin. Lab. Invest. 11, 388 (1959)
75. Munkner, C.: Changes in non-esterified fatty acids in human plasma after ingestion of various foodstuffs, Scand. J. Clin. Lab. Invest. 11, 394 (1959)
76. Murkerjee, P.: Use of ionic dyes in the analysis of ionic surfactants and other ionic organic compounds. Anal. Chem. 26, 870 (1956)
77. Olson, R.E.: Conservation of energy in cardiac muscle, Am. New York Acad. Sc. 72, 466 (1959)
78. Perry, W.F. a. J.P. Gemmell: Plasma non-esterified fatty acids in hypopituitary patients, Metabolism 5, 501 (1960)
79. Raben, M.S. a. C.H. Hollenberg: Effect of growth hormone on plasma fatty acids. J. Clin. Invest. 37, 922 (1958)

80. Raben, M.S. a. C.H. Hollenberg: Effect of growth hormone on plasma fatty acids, J. Clin. Invest. 38, 484 (1959)
81. Raben, M.S. a. C.H. Hollenberg: Effect of glucose and insulin on the esterification of fatty acids by isolated adipose tissue, J. Clin. Invest. 39, 435 (1960)
82. Reshef, L., E. Shapiro a. B. Shapiro: In vitro release of unesterified fatty acids by adipose tissue, Metabolism 7, 723 (1958)
83. Reshef, L. a. B. Shapiro: Effect of epinephrine, cortisone and growth hormone on release of unesterified fatty acids by adipose tissue in vitro, Metabolism 6, 551 (1960)
84. Rich, C., E.L. Bierman a. I.L. Schwartz: Plasma non-esterified fatty acids in hyperthyroid state, J. Clin. Invest. 38, 275 (1959)
85. Savary, P. et P. Desnuelle: Analyse chromatographique des melanges contenant des acides gras, des monoglycerides, des diglycerides et des triglycerides. Bull. Soc. Chim. Fr. 936(1954)
86. Schotz, M.C. a. J.H. Page: Effect of norepinephrine on plasma non-esterified fatty acids (NEFA) and the release of NEFA from rat epididymal adipose tissue, Fed. Proc. 18, 139 (1959)
87. Schrade, W., E. Böhle, R. Biegler u. H. Kirst: Untersuchungen über die unveresterten Fettsäuren des Blutes. Ein Beitrag zur Problematik der Fettsucht, Münchn. Med. Wschr. 101, 2062 (1959)
88. Schrade, W., E. Böhle, R. Biegler u. C. Sabel: Gaschromatographische Untersuchungen der Serumfettsäuren des Menschen. II. Mitt.: Beiträge zur Regulation der unveresterten Fettsäuren, Klin. Wschr. 38, 707 (1960)

- 88a. Schrade, W., E. Böhle, R. Biegler, R. Teicke, B. Ullrich:
Gaschromatographische Untersuchungen der
Serumfettsäuren des Menschen. III. Mitt.
Die Fettsäuren der Cholesterinester, Phos-
pholipide und Triglyceride, sowie die un-
veresterten Fettsäuren bei Gesunden und
Arteriosklerotikern Klin. Wschr. 38, 739
(1960)
89. Schrade, W., E. Böhle u. R. Biegler: Über Fortschritte der
Fettstoffwechselforschung und ihre klinische
Bedeutung, Dtsch. med. Wschr. 86, 781 (1961)
90. Schulze, C. u. H. Salemi: Untersuchungen über die freien,
unveresterten Fettsäuren des menschlichen
Blutserums, Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 36,
679 (1960)
91. Shafrir, E.: Partition of unesterified fatty acids in
normal and nephrotic syndrome serum and its
effect on serum electrophoretic pattern, J.
Clin. Invest. 37, 1775 (1958)
- 91a. Spector, W.S. Handbook of Biological Data. W.B. Saunders,
Philadelphia a. London 1956 p.20
92. Shafrir, E. a. D. Steinberg: The essential role of the
adrenal cortex in the response of plasma
free fatty acids, cholesterol and phospho-
lipids to epinephrine injection, J. Clin.
Invest. 2, 310 (1960)
93. Spitzer, J. J.: Heparin and lipid transport. The blood
lipids and the clearing factor, Brüssels
1956, S. 243
94. Spitzer, J. J. a. H.I. Miller: Unesterified fatty acids
and lipid transport in dogs, Proc. Soc.
exp. Biol. Med. 92, 124 (1956)
95. Stewart, C.P. a. A.C. White: The determination of soap in
blood, Biochem. J. 23, 1263 (1929)
96. Stormount, J.M. a. J.E. Mackie: An abnormality of non-
esterified fatty acid metabolism in patients
with cirrhosis, J. Clin. Invest. 38, 1047
(1959)

97. Stuhlfaut, K. u. N. Zöllner: Der Einfluß von Fructose auf den Gehalt des Serums an nichtveresterten Fettsäuren, *Klin. Wschr* 37, 1162 (1959)
98. Svanborg, A. a. L. Svennerholm: Determination of unesterified fatty acids in normal human plasma, *Clin. Chim. Acta* 3, 443 (1958)
99. von Szent-Györgyi, A. u. T. Tominaga: Die quantitative Bestimmung der freien Blutfettsäuren, *Biochem. Ztschr.* 146, 226 (1924)
100. Visintine, R.E., G.D. Michaels, G. Fukayama, J. Conklin a. L.W. Kinsell: Xanthomatous biliary cirrhosis treated with cholestyramine, *Lancet*, Aug. 1961, II, S. 341
101. Wajchenberg, B.L., G. Hoxter, E.H.L. Mello, a. A.E. Ulhoa Cintra: Non-esterified and esterified fatty acids in hepatocellular disease, *Lancet* 2136, 1218 (1960)
102. Winehouse, S., R.H. Milkington a. M.E. Volk: Oxidation in isotopic palmitic acid in animal tissues, *J. Biol. Chem.* 185, 191 (1950)
103. Werk, E.E. jr. a. H.C. Knowles jr.: The blood ketone and plasma free fatty acid concentration in diabetic and normal subjects, *Diabetes* 10, 22 (1961)
104. Werkheimer, E. a. V. Ben-Tor: Fat utilization by muscle, *Biochem. J.* 50, 573 (1952)
105. White, J.E. a. F.L. Engel: The influence of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) on the release of non-esterified fatty acids from rat adipose tissue in vitro *J. Clin. Invest.* 37, 942 (1958)
106. Wilgramm G.F., J. Campbell, L. Lewis a. J. Patterson: Effects of growth hormone on the transport of lipids in blood, *Diabetes* 8, 205 (1959)
107. Zöllner, N. u. K. Kirsch: Die säulenchromatographische Trennung der Plasmalipoide, *Ztschr. exp. Med.* 134, 10 (1960)

Herrn Professor Dr. med. W. Schrade danke ich für
die Überlassung des Themas.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. E. Böhle
für die Durchführung sämtlicher gaschromatographischer
Untersuchungen dieser Arbeit sowie für vielfältige
Mithilfe und wertvollen Rat.

G) L E B E N S L A U F

Als Sohn des Studienrates Herbert Ant wurde ich am 17. Juli 1934 in Essen geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule und des Diltthey-Realgymnasiums in Wiesbaden erhielt ich Ostern 1955 das Reifezeugnis.

Im gleichen Frühjahr begann ich das Medizinstudium an der Universität Frankfurt, wo ich im Herbst 1957 das Physikum und im Februar 1961 die ärztliche Prüfung ablegte.

Anschließend war ich bis zum 30. September 1961 Medizinalassistent an der I. Medizinischen Universitätsklinik Frankfurt.

Vom 1. Oktober 1961 bis 10. Juli 1962 arbeitete ich an der geburtshilflichen und gynakologischen Abteilung des St. Josef-Hospitals, vom 10. September 1962 bis 31. Mai 1963 an der chirurgischen Abteilung des Elisabeth - Krankenhauses in Oberhausen im Rheinland.

Meine Approbation erhielt ich am 15. Mai 1963.

Seit Juni dieses Jahres bin ich an der pädiatrischen Abteilung des USAF Hospitals in Wiesbaden tätig.

Wiesbaden, 1963

Rüdiger

Verzeichnis der Vorlesungen

Vorlesungs-Nr.	Vorlesungs-Name	Dozent
1	Einleitung	Prof. Dr. Schmidt
2	Mathematik	Prof. Dr. Schmidt
3	Physik	Prof. Dr. Schmidt
4	Chemie	Prof. Dr. Schmidt
5	Biologie	Prof. Dr. Schmidt
6	Geologie	Prof. Dr. Schmidt
7	Medizin	Prof. Dr. Schmidt
8	Rechtswissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
9	Historie	Prof. Dr. Schmidt
10	Philosophie	Prof. Dr. Schmidt
11	Religion	Prof. Dr. Schmidt
12	Politik	Prof. Dr. Schmidt
13	Wirtschaftswissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
14	Sozialwissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
15	Psychologie	Prof. Dr. Schmidt
16	Pädagogik	Prof. Dr. Schmidt
17	Erziehungswissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
18	Arbeitswissenschaft	Prof. Dr. Schmidt
19	Umweltwissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
20	Interdisziplinäre Studien	Prof. Dr. Schmidt
21	Neurowissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
22	Genetik	Prof. Dr. Schmidt
23	Immunologie	Prof. Dr. Schmidt
24	Endokrinologie	Prof. Dr. Schmidt
25	Reproduktionssysteme	Prof. Dr. Schmidt
26	Neurologie	Prof. Dr. Schmidt
27	Psychiatrie	Prof. Dr. Schmidt
28	Gerontologie	Prof. Dr. Schmidt
29	Rehabilitation	Prof. Dr. Schmidt
30	Medizinische Ethik	Prof. Dr. Schmidt
31	Medizinische Soziologie	Prof. Dr. Schmidt
32	Medizinische Anthropologie	Prof. Dr. Schmidt
33	Medizinische Ökologie	Prof. Dr. Schmidt
34	Medizinische Informatik	Prof. Dr. Schmidt
35	Medizinische Rechtswissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
36	Medizinische Philosophie	Prof. Dr. Schmidt
37	Medizinische Religion	Prof. Dr. Schmidt
38	Medizinische Politik	Prof. Dr. Schmidt
39	Medizinische Wirtschaftswissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
40	Medizinische Sozialwissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
41	Medizinische Psychologie	Prof. Dr. Schmidt
42	Medizinische Pädagogik	Prof. Dr. Schmidt
43	Medizinische Erziehungswissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
44	Medizinische Arbeitswissenschaft	Prof. Dr. Schmidt
45	Medizinische Umweltwissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
46	Medizinische Interdisziplinäre Studien	Prof. Dr. Schmidt
47	Medizinische Neurowissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
48	Medizinische Genetik	Prof. Dr. Schmidt
49	Medizinische Immunologie	Prof. Dr. Schmidt
50	Medizinische Endokrinologie	Prof. Dr. Schmidt
51	Medizinische Reproduktionssysteme	Prof. Dr. Schmidt
52	Medizinische Neurologie	Prof. Dr. Schmidt
53	Medizinische Psychiatrie	Prof. Dr. Schmidt
54	Medizinische Gerontologie	Prof. Dr. Schmidt
55	Medizinische Rehabilitation	Prof. Dr. Schmidt
56	Medizinische Medizinische Ethik	Prof. Dr. Schmidt
57	Medizinische Medizinische Soziologie	Prof. Dr. Schmidt
58	Medizinische Medizinische Anthropologie	Prof. Dr. Schmidt
59	Medizinische Medizinische Ökologie	Prof. Dr. Schmidt
60	Medizinische Medizinische Informatik	Prof. Dr. Schmidt
61	Medizinische Medizinische Rechtswissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
62	Medizinische Medizinische Philosophie	Prof. Dr. Schmidt
63	Medizinische Medizinische Religion	Prof. Dr. Schmidt
64	Medizinische Medizinische Politik	Prof. Dr. Schmidt
65	Medizinische Medizinische Wirtschaftswissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
66	Medizinische Medizinische Sozialwissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
67	Medizinische Medizinische Psychologie	Prof. Dr. Schmidt
68	Medizinische Medizinische Pädagogik	Prof. Dr. Schmidt
69	Medizinische Medizinische Erziehungswissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
70	Medizinische Medizinische Arbeitswissenschaft	Prof. Dr. Schmidt
71	Medizinische Medizinische Umweltwissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
72	Medizinische Medizinische Interdisziplinäre Studien	Prof. Dr. Schmidt
73	Medizinische Medizinische Neurowissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
74	Medizinische Medizinische Genetik	Prof. Dr. Schmidt
75	Medizinische Medizinische Immunologie	Prof. Dr. Schmidt
76	Medizinische Medizinische Endokrinologie	Prof. Dr. Schmidt
77	Medizinische Medizinische Reproduktionssysteme	Prof. Dr. Schmidt
78	Medizinische Medizinische Neurologie	Prof. Dr. Schmidt
79	Medizinische Medizinische Psychiatrie	Prof. Dr. Schmidt
80	Medizinische Medizinische Gerontologie	Prof. Dr. Schmidt
81	Medizinische Medizinische Rehabilitation	Prof. Dr. Schmidt
82	Medizinische Medizinische Medizinische Ethik	Prof. Dr. Schmidt
83	Medizinische Medizinische Medizinische Soziologie	Prof. Dr. Schmidt
84	Medizinische Medizinische Medizinische Anthropologie	Prof. Dr. Schmidt
85	Medizinische Medizinische Medizinische Ökologie	Prof. Dr. Schmidt
86	Medizinische Medizinische Medizinische Informatik	Prof. Dr. Schmidt
87	Medizinische Medizinische Medizinische Rechtswissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
88	Medizinische Medizinische Medizinische Philosophie	Prof. Dr. Schmidt
89	Medizinische Medizinische Medizinische Religion	Prof. Dr. Schmidt
90	Medizinische Medizinische Medizinische Politik	Prof. Dr. Schmidt
91	Medizinische Medizinische Medizinische Wirtschaftswissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
92	Medizinische Medizinische Medizinische Sozialwissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
93	Medizinische Medizinische Medizinische Psychologie	Prof. Dr. Schmidt
94	Medizinische Medizinische Medizinische Pädagogik	Prof. Dr. Schmidt
95	Medizinische Medizinische Medizinische Erziehungswissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
96	Medizinische Medizinische Medizinische Arbeitswissenschaft	Prof. Dr. Schmidt
97	Medizinische Medizinische Medizinische Umweltwissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
98	Medizinische Medizinische Medizinische Interdisziplinäre Studien	Prof. Dr. Schmidt
99	Medizinische Medizinische Medizinische Neurowissenschaften	Prof. Dr. Schmidt
100	Medizinische Medizinische Medizinische Genetik	Prof. Dr. Schmidt

Verzeichniss meiner akademischen Lehrer (Fortsetzung)

Prof.Dr. Zutt	Psychiatrie
Prof.Dr. Jantz	
Prof.Dr. Schwab	
Prof.Dr. Wiethold	Gerichtsmedizin
Prof.Dr. Artelt	Geschichte der Medizin
Prof.Dr. v.Reckow	Zahnheilkunde
Prof.Dr. Herzberg	Hygiene
Prof.Dr. Holtz	Pharmakologie
Prof.Dr. Schürmann	
Prof.Dr. Betke	Arbeits-u. Sozialhygiene
Prof.Dr. Schmith	Gesundheitsfürsorge
Prof.Dr. Czerny	Physik
Prof.Dr. Halbsguth	Botanik
Prof.Dr. Montfort	
Prof.Dr. Kramp	Genetik
Prof.Dr. Wieland	Chemie
Prof.Dr. Koyen	
Prof.Dr. Ried	
Prof.Dr. Giersberg	Zoologie
Prof.Dr. Wetzler	Physiologie
Prof.Dr. Felix	Physiologische Chemie

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel "Über eine Methode zur präparativen Darstellung und Bestimmung der unveresterten Fettsäuren aus Lipidgemischen; zugleich ein Beitrag über die Zusammensetzung der unveresterten Fettsäuren des Blutserums bei Gesunden". in der I. Medizinischen Universitätsklinik Frankfurt/Main unter Leitung von Prof.Dr.F. Hoff mit Unterstützung durch Prof.Dr.W. Schrade und Privatdozent Dr. E. Böhle ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Wiesbaden, 1961

Winfried 

